

T0024069

한강 하구습지 염분구배에 따른
대형저서동물과 공생미생물의 분포 파악 및
유전자원 확보

Bioresource distribution patterns for
macrobenthos and their associated
microorganisms according to the salinity
gradient in Han river wetlands

인 하 대 학 교

해 양 수 산 부

제 출 문

해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “한강 하구습지 염분구배에 따른 대형저서 동물과 공생미생물의 분포 파악 및 유전자원 확보” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2008 년 2 월 13 일

주관연구기관명 : 인하대학교

주관연구책임자 : 조 장 천

연 구 원 : 홍 재 상

연 구 원 : 윤 건 탁

연 구 원 : 황 인 서

연 구 원 : 양 승 조

연 구 원 : 김 하 나

요 약 문

I. 제 목

한강 하구습지 염분구배에 따른 대형저서동물과 공생미생물의 분포 파악 및 유전자원 확보

II. 연구개발의 목적 및 필요성

한강하구의 염분구배에 따른 저서동물의 분포패턴의 변화는 이들과 공생하는 해양미생물의 분포에 영향을 미치고 있지만 공생미생물 연구 또한 미진한 실정이다. 저서동물의 분포패턴 확인은 한강 하구 습지생태계 관리를 위한 서식처의 종류별 mapping에 필수적이며 저서동물과 공생하는 유용미생물의 배양은 미래원천 유전자원으로 사용될 수 있도록 하는 기초가 될 수 있다. 이와 같은 연구의 필요성 아래 연구목적을 다음과 같이 설정하였다.

- 1) 한강 하구역의 염분구배에 따른 대형무척추동물 분포 파악
- 2) 매년 봄철에 한강에 출현하는 기수산 갯지렁이의 종류 파악
- 3) 주요대형무척추동물과 공생하는 난배양 유용공생미생물 배양
- 4) 난배양 공생미생물로부터 새로운 유전자원 확보 및 신종의 등록

III. 연구개발 내용 및 범위

첫째, 본 연구에서는 한강하구에서의 대형 저서생물상의 파악과 더불어 갯지렁이의 생태를 연구한다.

둘째, 미개척 생태계에 서식하는 새로운 생물유전자원의 확보는 해양생명공학의 기초원천물질로서 기능하므로 공생미생물을 기반으로 하는 생물유전

자원의 조속한 파악 및 확보가 필요하다. 이미 산업적으로 효용성을 인정받은 바 있는 갯지렁이류에 공생하는 미생물의 균집 분석 및 이를 토대로 한 순수 토종 신종 미생물 순수 분리 배양을 통한 유전자원 확보를 달성한다.

본 연구는 1년간의 단년 과제로서 한강하구에 서식하는 대형저서동물의 분포파악과 이에 공생하는 미생물을 순수분리하여 미생물자원을 확보하는 것을 연구의 주된 범위로 하고 있다.

IV. 연구개발 결과

- 한강하구역 3곳의 습지(장항습지, 산남습지, 시암습지)에서 대형무척추동물의 종조성 및 분포를 파악하였음
- 갯지렁이류(*Hediste diadroma*), 털보백금갯지렁이(*Nephtys ciliata*), 대나무갯지렁이류(*Maldanidae* sp.) 등 환형동물 3종이 한강하구에 서식하고 있음을 확인
- 강어귀참갯지렁이류 중 미기록종 *Hediste diadroma* 를 국내 최초로 보고하였음
- 한강 하구역에서 도약옆새우류와 털보백금갯지렁이가 서식함을 처음으로 보고하였음
- 한강하구의 갯지렁이 소화관에서 총 84주, 한강하구 강물에서 160주, 동검도 갯벌의 흰이빨참갯지렁이에서 총 150주 등 총 394주의 미생물을 순수 배양하였음
- LINUX기반 ARB DB의 확립 및 미세콜로니 의 염기서열을 이용한 신종 후보군을 확보
- 총 394주의 순수배양 미생물 중 23개의 신종 및 신속에 해당하는 미생물 70주 확보 및 다상분류 진행 중

V. 연구개발 결과의 활용계획

본 1년 과제의 연구개발결과는 다음과 같은 과학적, 정책적 측면에서 중요한 자료 및 과학적 내용으로 활용될 수 있을 것이라 판단된다.

- 환경변화에 따른 한강 생태계 관리를 위한 생물다양성 감시대책 활용
- 한강 하구역의 서식처 mapping으로 한강습지관리에 정책자료로 활용
- 저서생물상 파악으로 홍수 및 가뭄으로 인한 생물상 예측 용이
- 확보된 70여주의 신규 미생물의 다상분류를 통한 신종의 국제적인 등록에 활용
- 확보된 약 400여주의 미생물은 신규 유용유전자원 발굴의 원천재료로서 적극적인 활용이 가능

SUMMARY

I. Title

Bioresource distribution patterns for macrobenthos and their associated microorganisms according to the salinity gradient in Han river wetlands

II. Necessity and objective of the study

The distribution of macrobenthos according to the salinity gradient in Han river wetland ecosystem is influencing diversity of the microbial community associated with macrobenthos. However there have been very few reports on the distribution patterns of the macrobenthic community and microbial community associated with the macrobenthos. The analyses of the macrobenthic community structure are essential for the management for Han river wetland ecosystem and the cultivation of macrobenthos-associated bacteria can be a potential biological resources for white and blue biotechnology. On the basis of this necessity, the objectives of the study were defined as the followings.

- 1) Analyses of distribution for macrobenthic invertebrates according to the salinity gradient in Han river wetland.
- 2) Identification of a brackish tubeworm occurring at Han river in every spring
- 3) Cultivation of uncultured microorganisms associated with macrobenthos
- 4) Obtain novel microorganisms from macrobenthos and official classification of novel microbial taxa

III. Contents and scope of the study

1) This study has been focused on the distribution of macrobenthic invertebrates in Han river wetland ecosystem and their ecology.

2) Microorganisms associated with macrobenthic flora in Han river wetland system have never been studied. Therefore it is necessary to study their distribution and to cultivate uncultured microorganisms in the wetland system. It has been known that bacteria associated with marine polychaeta have a potential for degrading macromolecules such as protein and lipid and can be used for biotechnological purposes. In this study, microorganisms associated with marine polychaeta will be initially targeted for screening.

The study is one-year warranted project. Therefore the study should focus on the global sketch of the distribution pattern for macrobenthic community and microbial community associated with the macrobenthos.

IV. Results

- Species composition and distribution patterns of macrobenthic invertebrates have been analyzed in three Han river wetlands (Janghang, Sannam, Siam).
- The major polychaetal species in the ecosystem were *Hediste diadroma*, *Nephtys ciliata*, and *Maldanidae* sp.
- *Hediste diadroma* was identified as a new unrecorded species in Korea.
- A total of 84 strains from a digestive track of *Hediste diadroma*, 160 strains from a river water, and 150 strains from a digestive track of *Periserrula leucophryna* were isolated in diverse Han river wetland

ecosystems.

- The 16S rRNA gene-based phylogeny was performed using the ARB program and several candidate novel bacterial species were identified.
- A total of 23 novel microbial taxa were identified and polyphasic taxonomy is being performed for 30 strains.

V. Application and further studies

The results of this one-year research project will be used for the following scientific and policy issues.

- The results can be used for the management of Han river ecosystem according to environmental changes.
- The results can be used for bioresource mapping of Han river wetland ecosystem.
- The results can be used for polyphasic taxonomy of newly isolated novel microbial taxa and registration of novel species
- The bacterial strains obtained in the study will be used for basic bioresource bank for screening bioactive material.

CONTENTS

Abstract	2
Summary	5
Contents	8
List of Tables	14
List of Figures	16
Chapter 1. Overview of this study	19
Section 1. The objectives of the study	19
Section 2. The necessity and scope	20
Chapter 2. Domestic and overseas state of the art	22
Chapter 3. Contents and results	23
Section 1. Natural environment of Han river wetland	23
1. Non-biological environmental parameters	23
A. Geographic properties	23
B. Sedimentation and wetland formation	27
1) Sedimentation property	27
2) Flood plain of Han river wetland	28
3) Management of Han river wetland sediments	28
C. Climate	29
D. Environmental protection area	30
Section 2. Distribution of benthic macro-invertebrates	32
1. Methods	32
A. Benthos at littoral zone	32
B. Benthos at sub-littoral zone	32
2. Results	37
A. Benthos at littoral zone	37

B. Benthos at sub-littoral zone	45
C. Comparison with previous results	48
D. Taxonomy of <i>Hediste</i> (Nereidae, Polychaeta)	57
1) <i>Hediste</i> , an abundant species at wetland	57
2) Distribution and lifecycle of <i>Hediste</i>	58
3) Characteristics of <i>Hediste</i> found in East Asia	60
4) Distribution of <i>Hediste</i> in East Asia	63
5) Tide as a limiting factor for <i>Hediste</i> distribution	64
6) Differential characteristics of three <i>Hediste</i> species	64
E. Summary of the study on benthic macroinvertebrates	67
Section 3. Cultivation of bacterial strains from a digestive tract of marine polychaeta	68
1. Isolation of microbial resources	68
A. Sampling of polychaete and river water	69
B. Sampling of polychaeta from a tidal flat	72
C. Cultivation of bacterial strains	72
2. Molecular phylogenetic analyses of strains isolated	74
A. Pure culture results	74
B. Molecular phylogeny using 16S rRNA gene	76
1) DNA Extraction and amplification	76
2) Screening of phylotypes using RFLP and sequencing	77
3) Molecular phylogeny of 16S rRNA gene sequences	80
C. Similarity analyses of 16S rRNA gene sequences	81
1) Microbe from polychaetes in Janghang wetland	83
2) Microbe from river water in Gongleung stream	87
3) Microbe from polychaetes in Donggeom tidal flat	92
D. Molecular phylogeny of bacterial strains isolated	101
1) Taxonomic property of bacterial strains from Hanriver wetland ..	101
2) Taxonomic property of bacterial strains from Donggeom wetland	106
3) Taxonomic protperty of novel bacterial species	112

Chapter 4. Achievement of the study	125
Chapter 5. Plans for application of the results	126
Chapter 6. References	127

목 차

제 출 문	1
요 약 문	2
SUMMARY	5
CONTENTS	8
목 차	11
List of Tables	14
List of Figures	16
제 1 장 연구개발과제의 개요	19
제 1 절 연구개발의 목적	19
제 2 절 연구개발의 필요성 및 범위	20
제 2 장 국내외 기술개발 현황	22
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	23
제 1 절 한강하구의 자연환경	23
1. 비생물학적 환경 요인의 현황	23
가. 지형학적 특징	23
나. 하구 퇴적과 습지의 생성	27
1) 한강하구의 퇴적상	27
2) 한강하구의 범람원	28
3) 한강하구의 퇴적물 관리	28
다. 기후	29
라. 보호구역 지정 현황	30
제 2 절 한강 하구의 저서무척추동물의 분포	32
1. 조사 방법	32

가. 습지 조간대 저서동물	32
나. 조하대 저서동물	32
2. 조사 결과	37
가. 습지 조간대 저서동물	37
나. 조하대 저서동물	45
다. 기존 자료와의 비교	48
라. 미기록 강어귀참갯지렁이 속 (<i>Hediste</i> , <i>Nereidae</i> , <i>Polychaeta</i>)의 분류 및 생태의 기재	57
1) 하천의 감조역에 우점하는 갯지렁이류	57
2) 강어귀참갯지렁이 속의 분포와 생활사	58
3) 동아시아에서 발견되는 강어귀참갯지렁이의 생식과 초기 생활사 특성	60
4) 동아시아에서의 강어귀참갯지렁이의 분포	63
5) 분포의 제한요인으로서의 조석	63
6) 동아시아의 강어귀참갯지렁이 속 3종의 검색표(Sato and Nakashima, 2003)	64
마. 한강하구 저서무척추동물 조사에 대한 요약	67
제 3 절 한강하구 및 강화도 갯벌의 다모류 소화관에서 미생물자원 확보	68
1. 미생물 자원의 분리 및 확보	68
가. 한강하구 갯지렁이 및 한강하구수의 채취	68
나. 강화도 갯벌의 갯지렁이 채취	69
다. 평판배지법을 이용한 미생물의 배양	72
2. 분리된 미생물의 분자계통학적 분석	74
가. 미생물의 순수배양 결과	74
나. 16S rRNA 유전자를 이용한 분자계통학적 분석방법	76
1) 핵산의 추출 및 증폭	76
2) RFLP를 이용한 <i>phylo</i> type의 탐색 및 염기서열 결정	77
3) 16S rRNA 유전자 염기서열의 분자계통학적 분석	80

다. 16S rRNA 유전자 염기서열의 유사도 분석	81
1) 장항습지 다모류 소화관 내 미생물	83
2) 곡릉천 하구습지 강물 서식 미생물	87
3) 동검도 갯벌서식 갯지렁이 소화관 내 미생물	92
라. 확보된 미생물의 분자계통학적 분석	101
1) 한강하구 미생물의 분자계통학적 특징	101
2) 동검도 갯벌의 다모류 소화관에서 분리한 미생물의 분자계통학적 분 류	106
3) 한강 하구에서 확보한 미생물 신종의 계통학적 특성	112
 제 4 장 연구개발 목표달성도	 125
 제 5 장 연구개발결과의 활용계획	 126
 제 6 장 참고문헌	 127

List of Tables

Table 3-1-1. 한강하구 주요 식생현황	26
Table 3-1-2. 한강 하구 습지보호지역 지정 내용	31
Table 3-2-1. 장항습지 조간대 대형저서동물의 종별 밀도 (개체/m ²)	39
Table 3-2-2. 산남습지 조간대 대형저서동물의 종별 밀도 (개체/m ²)	41
Table 3-2-3 시암습지 조간대 대형저서동물의 종별 밀도 (개체/m ²)	43
Table 3-2-4. 조하대 대형저서동물의 종별 밀도 (개체/m ²)	46
Table 3-2-5. 한강하구 조하대의 퇴적물 조성 및 평균입자크기	47
Table 3-2-6. 한강 하구역 (신곡수중보-전류리 사이)의 습지 조간대 및 조하대에서 출현한 대형저서동물 목록	51
Table 3-2-7. 조사 지역 주변 수역에서 채집된 참게의 갑장(CL)과 전중(TW) 범위.	55
Table 3-2-8. Smith(1958), Sato and Nakashima(2003)에 근거한 강어귀참갯지렁이 속(Hediste) 5종의 강모의 비교 (Sato, 2004).	59
Table 3-2-9. 강어귀참갯지렁이 속 5종의 생식과 발생형질의 비교 (Sato, 2004)	61
Table 3-3-1. Composition of agar media used for cultivation studies.	74
Table 3-3-2. The total number of isolates and 16S rDNA sequences obtained.	75
Table 3-3-3. Sequences of primers used for bacterial 16S rDNA analysis.	78
Table 3-3-4. Number of isolates identified by PCR-RFLP-sequencing and summary of phylogenetic analyses	82
Table 3-3-5. Summary of comparative 16S rRNA gene analyses from polychaeta in the Janghang wetland. (Abbreviations: Alpha, Alphaproteobacteria; Gamma, Gammaproteobacteria; Firm, Firmicutes; Act, Actinobacteria)	84
Table 3-3-6. Summary of comparative 16S rRNA gene analyses from river	

water in Gokleung wetland area. (Abbreviations: Alpha, Alphaproteobacteria; Beta, Betaproteobacteria; Gamma, Gammaproteobacteria; Bac, Bacteroidetes; Act, Actinobacteria) ·

88

Table 3-3-7. Summary of comparative 16S rRNA gene analyses retrieved from polychaeta digestive tracts inhabiting Donggeum tidal flat. (Abbreviations: Alpha, Alphaproteobacteria; Beta, Betaproteobacteria; Gamma, Gammaproteobacteria; Bac, Bacteroidetes; Firm, Firmicutes; Act, Actinobacteria) 93

List of Figures

Fig. 2-1-1. 연구개발의 전체적인 로드맵.	21
Fig. 3-2-1. 한강 습지 조간대 및 조하대 저서동물의 채집 장면. 원통 코어를 이용한 조간대 저서동물 채집.	34
Fig. 3-2-2 한강 습지 조간대 및 조하대 저서동물의 채집 장면. van Veen 채니기를 이용한 조하대 저서동물 채집.	35
Fig. 3-2-3. 한강하구의 조간대 및 조하대 대형무척추동물 조사 지역	36
Fig. 3-2-4. 장항습지 조간대 전경	38
Fig. 3-2-5. 시암습지 조상대 갈대군락과 조간대 필 퇴적상	42
Fig. 3-2-6. 갈대군락과 경계를 이루는 폭좁고 가파른 경사면은 한강습지 조간대의 전형이다.	44
Fig. 3-2-7. 한강 하구역의 습지 조간대 및 조하대에서 출현한 대형저서동물	52
Fig. 3-2-8. 한강 하구역의 습지 조간대 및 조하대에서 출현한 대형저서동물 (그림7에서 계속)	53
Fig. 3-2-9. 조사지역에서 흠자망에 채집된 참게	54
Fig. 3-2-10. 조사 지역 주변 수역에서 채집된 참게의 갑장-전중 관계식	56
Fig. 3-3-1. The map of sampling area and sampling stations in Han river wetlands.	70
Fig. 3-3-2. Pictures taken from Janghang wetland and polychaeta.	71
Fig. 3-3-3. Examples of gel electrophoresis using PCR products (A) and restriction fragment length polymorphism (B) obtained from the Han river wetlands. M: 100bp ladder.	79
Fig. 3-3-4. Phylogenetic composition of bacterial isolates retrieved from Gokleung wetland river water and polychaeta digestive tracts.	84
Fig. 3-3-5. Phylogenetic composition of bacterial isolates retrieved from marine polychaeta digestive tracts in Donggum tidal flat.	93
Fig. 3-3-8. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships	

	between the bacterial isolates from Han river esturay and related bacteria in the Betaproteobacteria.	103
Fig. 3-3-9.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from Han river esturay and related bacteria in the Bacteroidetes.	104
Fig. 3-3-10.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from Han river esturay and related bacteria in the Firmicutes and Actinobacteria.	105
Fig. 3-3-11.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from polychaeta digestive tracts inhabiting Donggum tidal flat sediment, in the domain Bacteria.	107
Fig. 3-3-12.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from polychaeta digestive tracts inhabiting Donggum tidal flat sediment, in the Alphaproteobacteria.	108
Fig. 3-3-13.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from polychaeta digestive tracts inhabiting Donggum tidal flat sediment, in the Gammaproteobacteria.	109
Fig. 3-3-14.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from polychaeta digestive tracts inhabiting Donggum tidal flat sediment, in the Bacteroidetes.	110
Fig. 3-3-15.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from polychaeta digestive tracts inhabiting Donggum tidal flat sediment, in the phyla Firmicutes, Actinobacteria, and Planctomycetes.	111
Fig. 3-3-16.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships	

	between strain IMCC6337 and related bacteria.	113
Fig. 3-3-17.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6404 and IMCC6519 and related bacteria.	114
Fig. 3-3-18.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6411 and related bacteria.	115
Fig. 3-3-19.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6412 and related bacteria.	116
Fig. 3-3-20.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6413 and related bacteria.	117
Fig. 3-3-21.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6438 and related bacteria.	118
Fig. 3-3-22.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6494, IMCC6526 and related bacteria.	119
Fig. 3-3-23.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6499, IMCC6506 and related bacteria.	120
Fig. 3-3-24.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6527 and related bacteria.	121
Fig. 3-3-25.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6545, IMCC6532, and related bacteria.	122
Fig. 3-3-26.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6483, IMCC6546, and related bacteria.	123
Fig. 3-3-27.	Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the clade of IMCC6560 and related bacteria.	124

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적

저서성 대형무척추동물은 모래, 펄, 암반 등에 서식하는 동물로서 이동범위가 크지 않아 이들의 풍도 (abundance), 다양도 (diversity), 생물량 (biomass), 종 조성 (species composition) 등은 환경요인의 변화를 잘 알려준다고 하여 환경평가의 지시자로 이용되고 있으나 한강 하구역에서 연구는 극히 제한적으로 이루어져 왔다. 한강하구의 염분구배에 따른 저서동물의 분포패턴의 변화는 이들과 공생하는 해양미생물의 분포에 영향을 미치고 있지만 공생미생물 연구 또한 미진한 실정이다. 본 연구팀의 예비연구수행결과 갯벌에 서식하는 갯지렁이로부터 새로운 강(Class)에 해당하는 *Verrucomicrobia*에 속하는 미생물을 분리한 바가 있으며 (Choo et al., 2007), 인하대학교 장정순 교수 연구팀은 흰이빨참갯지렁이 (*Polychaeta Periserrula leucophryna*)에서는 피브린 용해 활성을 지니는 새로운 효소를 발견하여 이들을 산업화에 성공하는 등 습지서식 동물과 공생하는 미생물은 새로운 생물자원으로 급부상하고 있는 상황이다. 이와 같이 저서동물의 분포패턴 확인은 한강 하구 습지 생태계 관리를 위한 서식처의 종류별 mapping에 필수적이며 저서동물과 공생하는 유용미생물의 배양은 미래원천 유전자원으로 사용될 수 있도록 하는 기초가 될 것이다.

이러한 연구배경 하에서 다음과 같은 최종연구목적을 본 1년의 연구과제에서 설정하였으며 이는 다음의 네가지 항목으로 요약될 수 있다.

- 1) 한강 하구역의 염분구배에 따른 대형무척추동물 분포 파악.
- 2) 매년 봄철에 한강에 출현하는 기수산 갯지렁이의 종류 파악.
- 3) 주요대형무척추동물과 공생하는 난배양 유용공생미생물 배양.
- 4) 난배양 공생미생물로부터 새로운 유전자원 확보 및 신종의 등록.

제 2 절 연구개발의 필요성 및 범위

한강 하구의 습지보전 지역 지정으로 인해 환경관리 및 보전을 위한 생물학적 기초자료의 축적이 절실히 요구되고 있는 상황이며, 특히, 2007년 5월에 서울시가 계획하는 잠실수중보와 신곡 수중보 사이의 물을 배수하는 계획은 저서동물 및 유용공생미생물 파악의 좋은 기회로 활용될 수 있다. 만조시 염수가 신곡 수중보를 넘어 잠실 수중보까지 유입되면서 수역의 하저가 기수역 환경으로 변하면서 생기는 염수거동에 따른 기수 생물상 형성 및 기작 규명은 한강물 관리에 필수적인 자료로서 이용가치가 있다고 사료된다. 이러한 점에 기초를 하여 본 연구에서는 다음과 같은 연구의 범위를 설정하였다.

첫째, 본 연구에서는 한강하구에서의 대형 저서생물상의 파악과 더불어 갯지렁이의 생태를 연구한다.

둘째, 미개척 생태계에 서식하는 새로운 생물유전자원의 확보는 해양생명공학의 기초원천물질로서 기능하므로 공생미생물을 기반으로 하는 생물유전자원의 조속한 파악 및 확보가 필요하다. 이미 산업적으로 효용성을 인정받은 바 있는 갯지렁이 류에 공생하는 미생물의 균집 분석 및 이를 토대로 한 순수 토종 신종 미생물 순수 분리 배양을 통한 유전자원 확보를 달성한다.

본 연구는 1년간의 단년 과제로서 최종적인 연구의 흐름은 다음 그림에 제시되어 있으나 본 연구에서는 한강하구에 서식하는 대형저서동물의 분포파악과 이에 공생하는 미생물을 순수분리하여 미생물자원을 확보하는 것은 주된 목표로 하고 있다. 이는 한강하구의 시료채취가 군사지역이라는 특성으로 인해 가변적이므로 시료채취 후에 수행할 수 있는 현실적인 연구목표라고 할 수 있다.

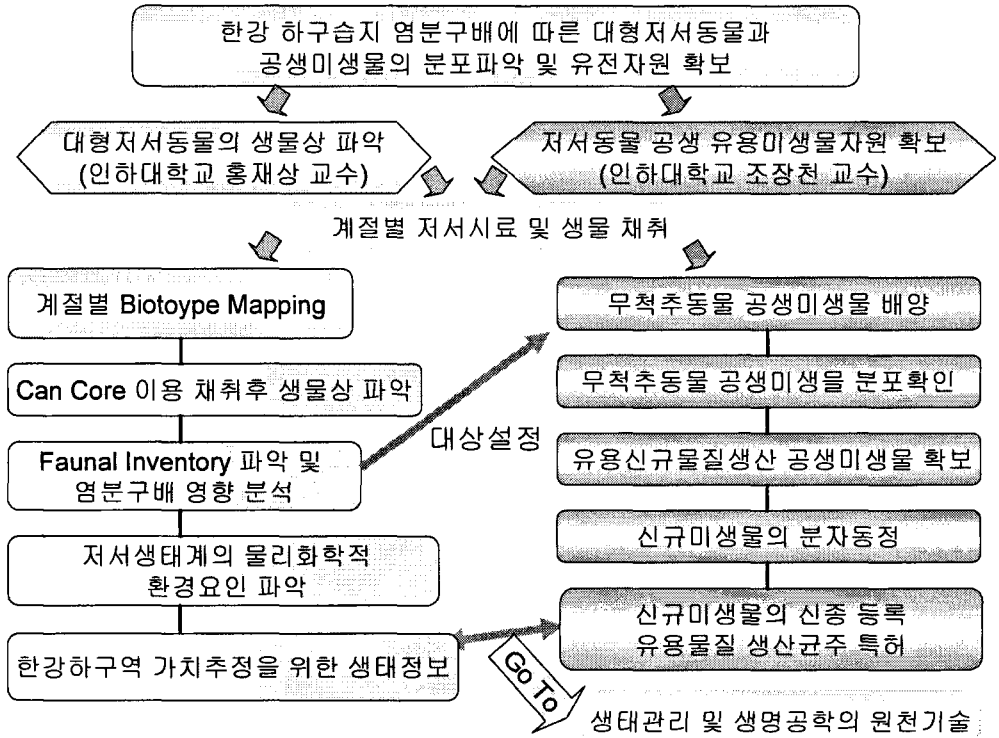


Fig. 2-1-1. 연구개발의 전체적인 로드맵.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

본 연구의 목적인 한강 하구는 국내 하구생태계 중 유일하게 하구언으로 막히지 않는 생태계이지만 그 접근성의 한계로 인해 연구수행이 활발하게 이루어지고 있지 못했던 실정이며 최근에 들어서 종합적 하구연구 필요성 및 여건이 조성되고 있다. 국내외 산업수요 측면을 살펴 보면 하구역에 대한 종합적 관리는 하구역이 단위면적당 생물생산성이 높은 지역이라는 특수성으로 인하여 이에 파생되는 산업 (레저, 낚시, 수산업, 해양생명공학 등)적 효과를 확보하고자 국제적인 관심이 확대되고 있다. 하지만, 하구는 독특한 하구 고유의 생물종을 포함하여 생물생산성이 높은 지역임에도 불구하고 특히 그동안 한강하구의 자연환경에 대한 조사·연구는 지정학적 특수성으로 인해 매우 제한적으로 실시되어 온 것이 사실이다. 국내에서의 하구에 대한 연구는 지금까지 단편적으로 실시된 조사·연구를 취합한 이창희 외(2004)과 하구역생태계 정밀조사의 일환으로 2004년 환경부·국립환경연구원(2005)에서 실시한 연구보고서가 대표적이며 학술논문으로 결과가 외화된 것은 극히 드물다.

대형 무척추동물과 상호작용하며 주로 소화관에 존재하는 미생물에 대해서는 단백질 분해효소를 확보하여 산업화에 성공한 바 있으며, 신규유전자원의 확보는 3,000억원/년의 해양생명공학 시장의 원천물질로 기능하므로 국제적인 확보경쟁이 치열하다고 할 수 있다. 소형무척추동물과 공생미생물과의 상호작용 파악 및 신종의 분리등록은 생태학적 차원에서 국제적으로 연구가 진행되고 있지만 대형무척추동물과의 공생하는 유용미생물자원의 파악은 국내, 국제적으로도 연구가 미진한 실정이다. 이러한 측면에서 본 연구는 해양 분자미생물학 전공자와 해양저서생물생태학 전공자가 협동하여 수행하는 과제로서 첫째, 한강하구에서 대형저서동물 생물상의 파악, 둘째 저서동물 공생 유용미생물자원 확보라는 크게 두가지의 협동 연구과제를 수행하는 것으로 이루어졌다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 한강하구의 자연환경

1. 비생물학적 환경 요인의 현황

하구는 마지막 하천구간으로 육상의 담수생태계가 해양생태계로 옮겨지는 생태적 완충지대로서 독특한 생물상과 생태적 특성을 갖고 있다. 특히 한강 하구는 서울을 포함하는 수도권 인구 약 2천만이 거주하는 한강을 관통하므로 한강하구의 습지는 물질 순환의 기능상 높은 생산력을 보여주고 있으며, 이는 다양한 생물다양성을 지지하는 근본적인 요인으로 작용한다(한강유역환경청, 2007). 하구는 독특한 하구 고유의 생물종을 포함하여 생물생산성이 높은 지역임에도 불구하고 특히 그 동안 한강하구의 자연환경에 대한 조사·연구는 지정학적 특수성으로 인해 매우 제한적으로 실시되어 온 것이 사실이다.

지금까지 단편적으로 실시된 조사·연구를 취합한 이창희 외(2004)과 하구역생태계 정밀조사의 일환으로 2004년 환경부·국립환경연구원(2005)에서 실시한 연구보고서를 기초로 하면서 그 밖에 고양시 등 지방자치단체, 서울지방국토관리청, 지역전문가 및 민간단체에 의해 실시된 현지조사 및 관련 자료를 참고하여 먼저 간단한 한강하구의 자연환경을 파악하고자 하였다.

가. 지형학적 특징

이창희 등(2003)에 따르면 한강하구의 습지는 총 면적 356.431km²이고 내륙습지 9.452km²와 346.979km²의 연안습지로 구성되어 있는데, 특히 하류부 강화도 남단 및 북단에 넓게 분포된 갯벌과 한강과 임진강의 합류지점을 중심

으로 형성된 성동습지, 시암리습지, 곡릉천하구습지 등이 아직까지도 대표적인 하구습지 모습을 간직하고 있으며, 산남습지는 상당부분 농경지 등 인위적 교란이 발생되었고, 장항습지는 연안습지와 내륙습지의 특성을 동시에 간직하고 있으며, 대규모 버드나무 군락이 형성되어 있다 (Table 3-1-1).

한강하구 습지 보호지역은 한강과 임진강이 만나는 합류부 주변으로는 월릉산(245m) 그리고 조강과 염하수로가 만나는 지점의 문수산(376m), 김포의 홍도평과 석탄리, 후평리 사이에 위치한 봉성산 등을 비롯한 낮은 산림이 고루 분포하고 있다. 한강 하구역에 위치하고 있는 높은 산은 대부분 광주산맥을 따라 분포하고 있는데, 광주산맥은 경기변성암 복합체의 편마암류로 이루어진 북동-남서방향의 산줄기이며, 한강하구는 광주산맥의 지맥으로 둘러싸여 있는데, 광주산맥은 한강을 넘어 남서방향으로 달리면서 해발고도 100m 내외의 구릉지로 낮아지는데, 저기북의 구릉지에는 계양산(395m)과 같은 원추형의 산들이 원호상의 산계에 따라 분포되어 있다.

한강하구 지역의 개화산(128m), 덕양산(120m), 봉성산(129m), 심학산(194m), 오두산(110m), 애기봉(99m), 문수산(376m)등의 산지가 분포하고 있고 주로 넓은 평야와 소기복의 구릉들로 이루어져 있으며, 하류부 일대는 주변 수계인 한강·임진강·예성강으로부터 충분한 양의 퇴적물이 유입되고, 8.1m에 이르는 경기만의 조수차이로 인해 감소구간이 넓게 나타나며, 큰 조차의 작용으로 유도, 강화도 등의 도서를 중심으로 연안습지가 넓게 발달되며, 곡릉천, 임진강, 신평리천 하구를 중심으로 내륙 습지가 발달되어 있다.

특히 하천의 유량변동이 계절에 따라 차이가 크고 군사적 그리고 안보상의 이유로 인해 주변부 개발에 제한을 가하게 됨으로써 비교적 넓은 하구습지가 형성할 수 있는 환경이 조성되었음은 주지하는 사실이다.

한강하구는 시암리 및 오두산 구간에서 임진강과 합류하여 영북한의 개풍군과 남한의 김포시와 강화군 사이를 흘러 서해로 유입하고 있으며, 마포대교에서 김포시 양촌면 누산리에 이르는 구간은 산지가 하안에 인접해 있고 유로가 상당히 단조롭고 직류하는 형태를 취하고 있는 것 같으나 이는 석탄리와 전류리 일대에서 농경지를 확보하기 위해 지속적으로 간척 및 인위적

직강공사, 제방축조로 인한 것으로, 원래 한강하구의 전반적인 수계망은 안양천, 굴포천, 곡릉천 등 여러지류들과 농업활동을 위해 조성된 수로들로 복잡하게 얽혀있는 형태를 띠고 있다.

한강하구의 갯벌은 넓은 충적층을 바탕으로 소규모 하천이 자유곡류하는 곡릉천과 함께 시암리 습지와 유도 등을 중심으로 발달되어 있다. 지질 분석에 의하면 한강하구 일대는 선캠브리아기에 형성된 경기편마암복합체를 기반으로 하여 한강을 따라 충적층 및 간척지가 넓게 나타나는 것이 특징으로, 김포시, 고양시 및 파주시 일대는 호상편마암이 분포되어 있고, 강화도 북단에는 화강편마암이 나타나며, 문수산 일대에서는 쥐라기 남포층군의 퇴적암이 나타나며 개화산 일대에서는 쥐라기에 관입된 화강암으로 구성되어 있다.

Table 3-1-1. 한강하구 주요 식생현황

구간	구간명	지역명	위치	식생현황	특징
1	담수	행주벌	고양시 덕양구 행주외동	작물	신곡수중보 위
		장항습지(신평동)	고양시 덕양구 신평동	버드나무군락	신곡수중보 밑
				울억새군락	
		강서습지	서울시 강서구 방화동	갈대군락 갯버들군락	인공습지공원 도하훈련장
전호리평야 ~홍도평(일부)	김포시 고촌면 전호리~풍곡리	논작물	토사야적장 신곡수중보 위		
2	기수 상부	장항습지	고양시 일산구 장항동	버드나무군락	수로발달
				갈대,새모고랭이군락	
		대화평야 장월평	고양시 일산구 법곶동~구산동	작물	수변구간 좁음
		홍도평	김포시 고촌면 향산리 ~ 걸포동	작물	수변구간 좁음
운양평야, 누산리	김포시 운양동 ~누산리	작물	수변구간 좁음		
3	기수 중부	산남습지	파주시 교하읍 신남리	갈대군락	수로발달
				세섬개자군락	
		출판단지습지	파주시 교하읍 문발리	이삭물수세미 ~ 마름군락	출판단지 내 배후습지
잔류리, 석탄리평야	김포시 하성면 전류리~석탄리	갈대군락 작물	수변공간 좁음		
4	기수 하부	곡릉천하구	파주시 교하읍 송촌리	갈대군락 세섬대자기군락	자연하천 하구 소택지
		교하물골, 초록도	파주시 탄현면 성동리, 대동리, 만우리	세섬매자기군락	물골발달
		후평리, 시암리	김포시 하성면 후평리 ~ 시암리	갈대군락 작물	물골발달
5	하구 염습지	유도 포구곶리	김포시 월곶면 유도 ~ 보구곶리	상수리나무군락 갈대~나문재군락	유도출입불가
		옥림리	강화군 강화읍 옥림리	벼 매화마름군락	수로발달

나. 하구 퇴적과 습지의 생성

1) 한강하구의 퇴적상

한강하구는 지질학적 관점에서 보면 후빙기 이후 해수면 상승 후 형성된 아주 젊은 환경임에도 불구하고, 하구주변의 유역으로부터 유입되는 많은 양의 토사가 하구 고유의 독특한 순환적인 유동패턴과 맞물려 퇴적함으로써 하구주변에 매우 넓은 습지가 형성되고, 유역으로부터 유입된 오염물질이 수층에서 제거되어 바닥의 퇴적물에 저장되었다 (이창희 외, 2003).

평균대조차가 약 8.1m인 인천을 중심으로 주변의 경기만에는 간석지가 넓게 분포되어 있는데, 한강하구에 형성되는 간석지는 해안선이 복잡하고 섬이 많아서 파랑의 작용이 활발하지 않은 대신에 조차가 커서 조류의 작용이 지배적인 지역에 주로 나타나며, 곡릉천, 창릉천, 사천, 굴포천, 예성강, 임진강과 같이 다양한 하천에서 흘러드는 토사에 의해 지속적으로 퇴적물이 형성되고 있다. 한강하구에 분포하는 갯벌 퇴적물의 주 공급원은 앞서 설명한 바와 같이 한강을 비롯한 대하천으로, 사질 간석지(sand flat)가 하구를 기점으로 외해를 향해 원호상으로 성장하는 모습이나 모래 퇴적물이 수로를 따라 길게 발달하는 양상은 강화해안 주변에 형성되는 간석지를 구성하는 물질이 한강 등 대하천에서 유입되고 있음을 보여주는 증거이다 (박경, 2003)

개펄(점토질 간석지, mud flat)은 대하천 하구와 수로에서 벗어나 에너지 흐름이 약화된 만입을 안쪽이나 유량이 부족한 소하천 하구를 중심으로 발달되는데, 수도권이 과밀로 인해 택지수요가 높아짐에 따라 뺄을 매립한 대규모 간척사업이 꾸준히 이루어져 해안선이 직선화되었다. 특히 점토질 간석지 상에 퇴적물의 침전이 계속되면 간석지는 염생습지(salt marsh)로 성장하는데, 염생습지는 간석지 가운데 육지에 가장 인접하여 분포하며, 지면이 높아져서 대조의 만조시에만 침수되므로 일찍부터 간척의 대상이 되어왔다.

2) 한강하구의 범람원

한강하구 주변의 평야는 범람원이라는 용어에서 의미하는 바와 같이, 큰 비가 내릴 때는 침수를 면치 못하는 것으로 알려져 있는데, 과거 기록에 따르면 우리나라에 대홍수가 발생한 1925년, 1936년, 1948년, 1959년, 1972년, 1984년, 1990년, 2002년 등 대체로 10-12년 주기로 홍수가 발생한 것으로 나타나고 있다. 과거 홍수로 인해 한강주변에서 범람이 되었던 지역들은 시기에 따라 변동이 크게 나타나고 있으나, 1940년대 이후 한강의 개수로 인해 점차 감소하는 경향을 보이고 있으며, 특히 소양강댐과 충주댐 등이 완공된 이후인 1985년 이후로는 한강 둔치가 잠지는 정도의 경계수위의 홍수에 대해서는 조절능력이 있는 것으로 판단되고 있다.

한강 하구역에는 범람원으로 불리는 퇴적지형이 광범위하게 발달되어 있는데, 범람원은 인공적으로 쌓은 인공제방과는 달리 하천이 운반하여 퇴적하는 토사로 만들어진 지형인 자연제방과 배후습지가 형성되는 지역이다. 자연제방은 물이 하도를 넘을 때 유속이 급격히 감소하면서 부유하중으로 운반되는 모래와 실트가 하도 주변에 퇴적됨으로서 지면이 약간 높은 지형을 이루면서 만들어지며, 배후습지는 하도에서 멀리 떨어진 곳에 토사의 유입이 적어 다른 지역에 비해 지표면이 약간 낮은 지형을 형성하면서 발생된다.

한강하구의 경우, 자유로와 김포지역 인공제방에 의해 하천과 주변지역과의 횡적인 연결이 단절되면서 하구의 제 모습을 상실하고 있으며, 특히 퇴적지형 또는 충적지형으로 불리던 수많은 한강하구 퇴적지형들은 이미 고유 모습을 크게 상실하였다.

3) 한강하구의 퇴적물 관리

퇴적된 토사는 경제적인 관점에서 보면 중요한 골재자원으로, 김포시의 경우 부족한 자원조달을 위해 지난 1992년부터 고촌면 향산리 941일대 매장되어 있는 모래와 자갈 등을 채취하여 판매하는 한강골재채취판매사업을 직접 운영하여, 1998년 말까지 모두 227억원 이상의 세외수입을 올린 바 있다.

퇴적된 토사는 수로 유지의 측면에서 보면 정기적으로 준설해야 한다는 주장을 꾸준히 제기하고 있어, 퇴적물의 관리방안 수립이 필요한 것이 사실이다. 한강하구 인근의 접경지역 개발 및 신도시 건설과 함께 골재수요가 증가하게 되면, 필연적으로 한강하구에서의 골재채취 및 준설문제가 현안으로 대두되고 있다. 골재채취에 따른 환경영향평가를 위해서는 한강하구 퇴적물의 기원, 운반기작, 퇴적기작, 재부유기작에 대한 연구가 필수적으로 수행되어야 할 것이며, 이를 위해서는 현재 접근이 불가능한 한강하구 수역에 대한 조사·연구가 선행되어야 함은 물론이다.

북한의 임진강 유역은 대부분의 산림이 황폐화되어 있고, 다락밭 및 비탈밭 등으로 인해 강우 시 침식에 의한 토사유출 문제가 하구퇴적에 미치는 영향이 매우 클 것으로 추정되며, 반면 한강유역은 많은 댐으로 인해 퇴적물의 유출패턴이 이미 완전히 변한 상태이기 때문에 하구퇴적물 문제는 지역적인 시각 보다는 유역차원에서 살펴보아야 할 필요가 있다.

다. 기후

한강하구 습지보호지역 인근의 서울, 인천, 강화 기후관측소에서 측정한 1971년부터 2000년까지의 30년 기후자료를 이용하여 평균기온, 강수량, 상대습도 등을 정리하면 대략 다음과 같다.

- 한강하구 지역의 연평균기온 11.0℃~12.2℃ 이며, 가장 더운 8월을 23℃~27℃, 가장 추운 1월은 -6℃~7℃로 나타남.

- 연강수량은 1,152~1,344mm로써, 여름철은 고온다습하며 강우량이 많은(강수량의 50~60%가 여름에 집중)반면 겨울철은 건조한 특성을 보이고 있음.

- 해안에 인접한 인천은 풍속이 높은 반면 내륙에 위치한 서울 지역은 풍속이 상대적으로 낮고 계절적으로는 여름과 가을에 비해 겨울과 봄에 풍속이 높게 나타남.

- 강화 일대는 연중 서풍이 지배적인 반면 겨울철에 서울은 서북서, 인천은 북서풍이 우세하게 나타나고 여름철은 서울과 강화지역이 서풍, 인천은 남서풍으로 부는 경향이 나타남.

라. 보호구역 지정 현황

최근 환경부는 습지의 보호 및 관리를 위해 동 권역의 갯벌 중 장항습지, 산남습지(고양시 소재), 시암리 습지와 유도(김포시 소재)등 한강 하구 습지 60.668km²(약 1,835만평)를 습지보호지역으로 지정하였다 (Table 3-1-2). 한강하구는 서해에서 하구둑이 설치되지 않은 유일한 하구로 생물다양성이 풍부하고 생태적으로 우수한 자연경관이 보전되어 있다. 동 지역에는 멸종위기 1급인 저어새, 흰꼬리수리, 매, 검독수리와 재두루미, 개리 등 조류 16종, 금개구리 등 양서류 2종, 매화마름과 샅 등이 서식하고 있다.

Table 3-1-2. 한강 하구 습지보호지역 지정 내용
(자료: 환경부 보도자료 2006.4)

관련시군별 지정 면적 현황		
구분	면적(kar)	비율(%)
김포시	22.984	37.9
고양시	14.230	23.5
파주시	14.536	23.9
강화군	8,918	14.7
합계	60.668	100.0
※ 소유현황: 국유지 97.8%, 공유지 0.5%, 사유지 1.4%, 기타 0.3% ※ 지목별 현황: 천 97.0%, 전 0.7%, 임야 0.5%, 기타 도로 등 1.8% 등		

제 2 절 한강 하구의 저서무척추동물의 분포

아직까지 한강하구의 무척추동물상은 잘 밝혀져 있지 않다. 따라서 한강 하구지역 중에서도 접근이 가능한 신곡수중보에서부터 전류리까지에 걸친 갯벌과 습지 식생지역, 그리고 조하대 지역에 걸쳐 2007년 1년동안 간헐적인 정성조사와 정량 조사를 실시하였으며, 이를 토대로 연구의 결과를 정리하면 다음과 같다.

1. 조사 방법

가. 습지 조간대 저서동물

습지 조간대에 서식하는 대형저서동물상을 파악하기 위하여 장항습지, 산남습지, 시암습지를 조사지역으로 선정하였다. 현장조사는 2007년 10월에 수행되었으며, 각 지역의 만조선과 간조선 사이의 조간대 지역에 5개 정점을 설정하여 저서동물을 정량 채집하였다. 채집방법은 단면적 80cm² 원통형 채니기를 사용하여 6회씩 퇴적물을 채취하고, 그물눈 크기가 1mm인 체로 걸러내어 생물을 채집하였다 (Fig. 3-2-1 & Fig. 3-2-2). 고정액은 중성 포르말린을 사용하였고, 실험실에서 동물군별로 선별한 후 해부현미경과 고배율현미경으로 종(species) 수준까지 동정하였다.

나. 조하대 저서동물

조하대란 간조 시에도 대기 중에 노출되지 않고 수면 아래 잠겨있는 곳을 말한다. 한강 하구역에 위치한 조하대에 서식하는 대형저서동물상을 파악하기 위하여 김포대교 이남부터 전류리 포구까지 6개 정점에서 2007년 10월에 저서동물을 채집하였다 (Fig. 3-2-3). 채집방법은 0.03m² van Veen 채니기를 사용하여 각 정점마다 3회씩 퇴적물을 채취하여 그물눈의 크기가 1mm인 체로 걸러내

어 생물을 채집하였다. 고정액은 중성 포르말린을 사용하였고, 실험실에서 동물군별로 선별한 후 해부현미경과 고배율현미경으로 종(species) 수준까지 동정하였다.

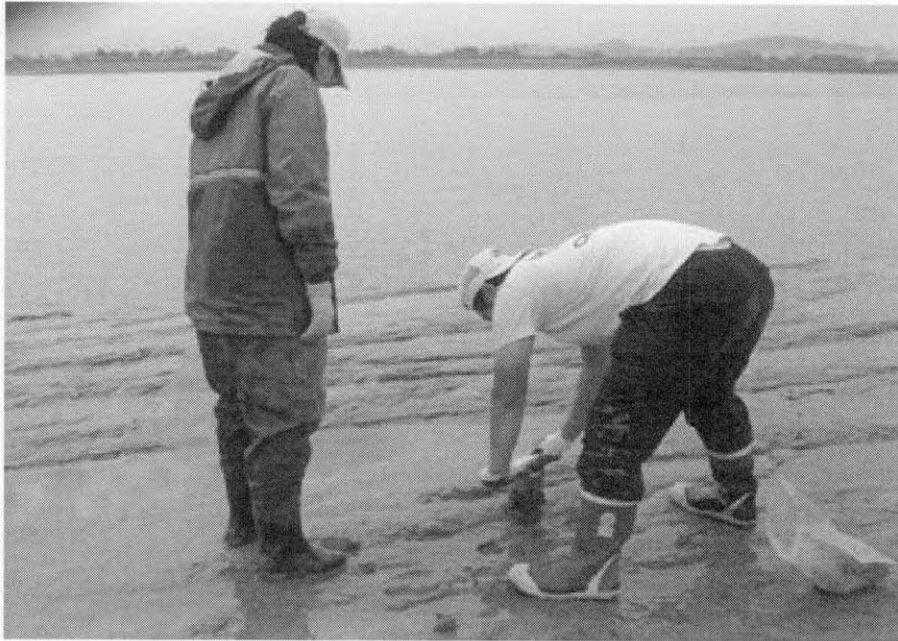


Fig. 3-2-1. 한강 습지 조간대 및 조하대 저서동물의 채집 장면. 원통 코어를 이용한 조간대 저서동물 채집.



Fig. 3-2-2 한강 습지 조간대 및 조하대 저서동물의 채집 장면.
van Veen 채니기를 이용한 조하대 저서동물 채집.

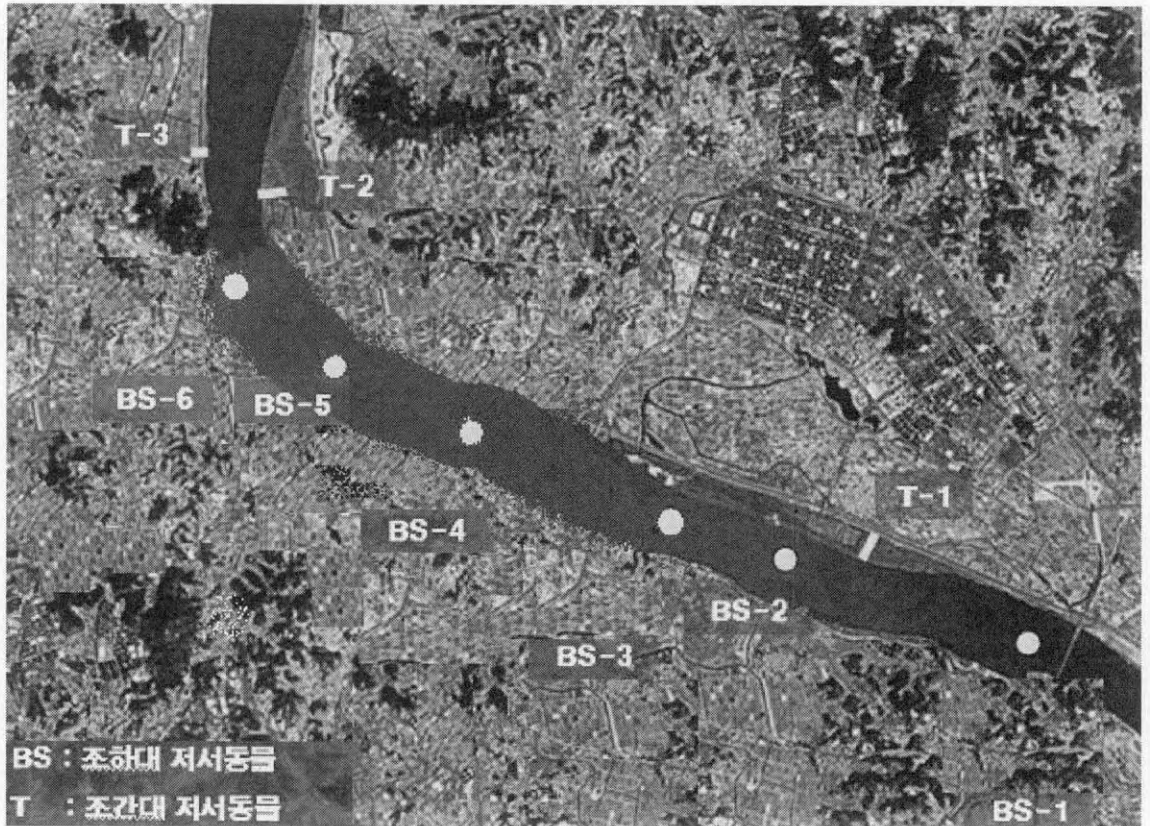


Fig. 3-2-3. 한강하구의 조간대 및 조하대 대형무척추동물 조사 지역

2. 조사 결과

장항습지, 산남습지, 시암습지 조간대 및 조하대에 서식하는 저서생물상 조사에서 절지동물 갑각강 십각목에 속하는 말뚝게(*Sesarma dehaani*), 펄콩게(*Ilyoplax deschampsi*), 참게(*Eriocheir sinensis*), 애기참게(*Eriocheir leptognathus*), 밀새우(*Palaemon carinicauda*)와 단각목에 속하는 도약옆새우류(*Trinorchestia* sp.) 등 절지동물 6종과 강갯지렁이류(*Hediste diadroma*), 털보백금갯지렁이(*Nephtys ciliata*), 대나무갯지렁이류(*Maldanidae* sp.) 등 환형동물 3종과 연체동물 이매패강에 속하는 콩재첩(*Corbicula felnouilliana*) 1종 등 총 10종이 발견되었다. 특별히 이번 조사를 통해 그동안 참갯지렁이(*Neanthes japonica*)로 잘못 알려진 종의 분류학적 기재를 바로잡아 강갯지렁이류(*Hediste diadroma*)로 국내 최초로 보고하였고, 한강 하구역에서도 도약옆새우류와 털보백금갯지렁이가 서식함을 처음으로 보고하였다. 본 조사에서 환경부 지정 멸종위기 야생동물은 출현하지 않았다.

가. 습지 조간대 저서동물

강안 습지 가운데 조간대 영역이 가장 넓은 곳은 장항습지(고양시 신평동~송포동 이산포)로서 만조선과 간조선 사이의 최대 직선거리는 약 600여 미터에 달하였다(Fig. 3-2-4). 그러나 조간대 상부 경사면을 제외한 대부분이 무릎 이상 빠지는 펄갯벌로서 생물상이 매우 단순하였다. 퇴적상은 전반적으로 모래 함량이 20% 미만이고 실트함량이 75~87% 정도인 모래가 약간 섞인 실트질이었다. 만조선 보다 높은 조상대 지역은 갈대밭을 이루고 있었으며, 말뚝게(*Sesarma dehaani*)가 서식하는 구멍이 많이 관찰되었다. 갈대군락이 끝나면서 무초본 경사면이 시작되는데, 간조선까지 5개의 정점에서 정량조사한 결과, 펄콩게(*Ilyoplax deschampsi*)가 단위면적 당 평균 116개체/m²의 밀도로 가장 우점하였고, 강갯지렁이류(*Hediste diadroma*)와 콩재첩(*Corbicula felnouilliana*)이 평균 4개체/m²의 낮은 밀도로 출현하였다(Table 3-2-1).



Fig. 3-2-4. 장항습지 조간대 전경

Table 3-2-1. 장항습지 조건대 대형저서동물의 종별 밀도 (개체/m²)

학 명	국 명	St.1	St.2	St.3	St.4	St.5	합계	평균
<i>Hediste japonica</i>	강갯지렁이	0	20	0	0	0	20	4
<i>Corbicula fenouilliana</i>	콩재첩	0	20	0	0	0	20	4
<i>Ilyoplax deschampsi</i>	펼콩게	280	0	280	0	20	580	116
합계		280	40	280	0	20	620	124

한강 하구의 북안에 위치한 산남습지(과주시 교하면 산남리)는 조간대의 폭이 짧고 경사가 급하였다. 산남습지 조간대의 퇴적상은 실트와 점토를 포함한 펄함량이 91~95%이고 모래 함량이 5~9%로서 도보 시 무릎 깊이 이상 빠지는, 펄이 우세한 퇴적환경이었다. 이러한 퇴적 환경에서는 저서생물상이 빈약한 것이 일반적인데, 실제로 5개 정점을 배치한 산남조간대 정량조사에서 펄콩게(*Ilyoplax deschampsii*) 단 한 종만 출현하였다. 펄콩게의 단위면적 당 평균 서식밀도는 208개체/m²였다(Table 3-2-2). 정성조사를 통해서도 조상대 갈대밭에서 말뚝게(*Sesarma dehaani*) 다수를 관찰하였으며, 조간대 상부에서도 약옆새우류(*Trinorchestia* sp.) 2개체와 대나무갯지렁이류(*Maldanidae* sp.) 1개체를 채집하였다. 대나무갯지렁이 1개체는 전반부 체절이 소실되어 과(科) 수준까지만 동정 가능하였다. 한강하구 남안에 위치한 시암습지의 조간대 또한 폭이 약 15미터 정도로 짧고 경사가 급하였다(Fig. 3-2-5). 시암습지 조간대의 퇴적상은 실트와 점토를 포함한 펄함량이 68~88%이고 모래함량이 12~32%로서 펄이 우세한 퇴적환경이었다. 시암습지 조간대 역시 저서생물상이 빈약하여 5개 정점을 배치한 정량조사에서 펄콩게(*Ilyoplax deschampsii*) 단 한 종만 출현하였다. 펄콩게의 단위면적 당 평균 서식밀도는 140개체/m²였다(Table 3-2-3). 정성조사에서는 조상대 갈대밭에서 말뚝게(*Sesarma dehaani*)가 다수 관찰되었으며, 조간대 하부에서 참게(*Eriocheir sinensis*)와 애기참게(*Eriocheir leptognathus*)가 각각 1개체씩 발견되었다. 한강을 중심으로 장항습지와 마주하고 있는 풍곡리 조간대 하부에서는 강갯지렁이류 *Hediste diadroma*가 높은 밀도로 서식하고 있었다. Fig. 3-2-6과 같이 한강 양안의 조간대는 모두 조상대의 갈대군락에 이어 폭이 좁고 경사가 급한 펄갯벌이 존재하는 등 서식처의 생태적 외형이 비슷하였다. 그럼에도 불구하고 강갯지렁이의 밀도가 지역에 따라 크게 차이가 나는 것은 일차적으로 실트질 함량 등 퇴적상의 차이에 기인하는 것으로 추정되나 보완 조사가 뒤따라야 정확한 규명이 이뤄질 것이다.

Table 3-2-2. 산남습지 조간대 대형저서동물의 종별 밀도 (개체/m²)

학 명	국 명	St.1	St.2	St.3	St.4	St.5	합계	평균
Maldanidae spp.	대나무갯지렁이류	20	0	0	0	0	20	4
<i>Ilyoplax deschampsii</i>	필콩게	160	280	380	200	20	1040	208
합계		180	280	380	200	20	1060	212



Fig. 3-2-5. 시암습지 조상대 갈대군락과 조간대 풀 퇴적상

Table 3-2-3 시암습지 조간대 대형저서동물의 종별 밀도 (개체/m²)

학 명	국 명	St.1	St.2	St.3	St.4	St.5	합계	평균
<i>Ilyoplax deschampsi</i>	필콩게	80	180	280	100	60	700	140
합계		80	180	280	100	60	700	140



Fig. 3-2-6. 갈대군락과 경계를 이루는 폭좁고 가파른 경사면은 한강습지 조건대의 전형이다.

나. 조하대 저서동물

본 연구지역의 조하대에 서식하는 대형저서동물상을 파악하기 위하여 김포대교 이남부터 일산대교를 지나 전류리 포구까지 6개 정점을 설정하여 정량 조사한 결과, 털보백금갯지렁이(*Nephtys ciliata*)와 콩재첩(*Corbicula fenouilliana*) 등 단 2종만 출현하였다. 털보백금갯지렁이는 모든 조하대 정점에서 출현하여 넓은 분포범위를 보였으나 개체수는 많지 않았다. 이 종의 단위면적 당 평균 서식밀도는 38개체/m²였으며, 공간적으로 김포대교 이남의 자갈-펄-모래 혼합 퇴적상에서 상대적으로 높은 밀도인 120개체/m²가 출현하였다. 반면에 모래와 실트로만 이루어진 나머지 정점에서는 밀도가 낮았다. 콩재첩(*Corbicula fenouilliana*)은 정점 1에서만 출현하였으며, 서식밀도는 30개체/m²였다(Table 3-2-4).

조하대 퇴적물의 평균 입자크기는 0.052~0.32 mm 분포를 보였다. 퇴적물 유형은 신곡수중보와 가까운 정점 1에서 자갈-펄-모래의 혼합퇴적상을 보였고, 정점3에서는 모래와 펄의 함량이 각각 29%, 71%로서 펄함량이 더 많았다. 모래함량은 일산대교 이남의 정점4와 5에서 각각 99%와 83%로 가장 높았다 (Table 3-2-5).

Table 3-2-4. 조하대 대형저서동물의 종별 밀도 (개체/m²)

학 명	국 명	St.1	St.2	St.3	St.4	St.5	St.6	합계	평균
<i>Nephtys ciliata</i>	털보백금갯지렁이	120	40	30	10	20	10	230	38
<i>Corbicula fenouilliana</i>	콩재첩	30	0	0	0	0	0	30	5
합계		150	40	30	10	20	10	260	43

Table 3-2-5. 한강하구 조하대의 퇴적물 조성 및 평균입자크기

정점	자갈 (%)	모래 (%)	실트 (%)	점토 (%)	퇴적물 유형	평균입도 (Φ)	분급도 (Φ)
St.1	22.47	49.32	26.21	2.00	자갈펄모래	3.336	2.662
St.2	0.00	41.62	55.90	2.48	모래실트	4.178	0.865
St.3	0.00	28.36	66.71	4.93	모래실트	4.452	1.275
St.4	0.44	99.56	0.00	0.00	모래	1.646	0.608
St.5	0.00	83.22	15.03	1.75	실트모래	3.524	0.815
St.6	0.00	37.20	59.95	2.85	모래실트	4.268	0.978

다. 기존 자료와의 비교

한강 하구역에서의 저서동물에 관한 연구는 한강산 담수패류의 분포 및 현존량에 관한 1969년의 유종생의 연구로 거슬러 올라간다. 이후 여러 연구가 진행되었으나 정부차원에서 공식적인 정밀조사는 2004년에 이르러서야 수행되었다(환경부, 2005). 환경부 조사결과와 본 조사 결과를 비교해 볼 때, 총 출현 종수는 각각 11종과 10종으로 비슷하였다. 비록 본 조사에서 일부 종은 출현하지 않거나 새로운 종의 서식이 보고되는 등 종 조성면에서 약간의 변화가 있었으나, 두 조사 모두 1회 조사로서 계절적 한계를 내포하고 있는 점 등을 고려할 때, 한강 하구역 습지의 조간대와 조하대에 서식하는 대형저서동물의 종 조성은 과거와 큰 차이가 없는 것으로 판단된다 (Table 3-2-6).

한강 하구역 습지에서 말뚝게의 서식이 보고된 것은 1987년 김훈수 등의 연구를 통해서였다. 이후로 말뚝게는 여러 조사를 통해서 한강 습지에서의 서식이 지속적으로 보고되었으며, 본 조사에서도 장항습지, 산남습지, 시암습지 조상대 갈대군락에서 모두 출현함으로써 다시 한번 한강 하구역 습지 생태계를 대표하는 우점종으로 확인되었다.

필콩게의 한강 하구역에서의 출현 기록은 서울대학교(1981), 민과 김(1991)에서 찾아볼 수 있으며, 최근 2004년 환경부 조사에서도 보고되었다. 본 조사에서도 장항, 산남, 시암습지 조간대의 모든 정점에서 높은 밀도로 출현하여 필콩게 역시 한강 하구역 습지 조간대의 대표적인 저서생물로 확인되었다.

참게는 하천이 바다로 흘러드는 하구역에서 주로 서식하는 중요 수산업종이다. 1980년대 이전까지는 대부분의 강하구에서 대량으로 출현 하였으나 하구역 개발에 따른 매립과 하구언 건설 등으로 참게의 서식환경이 급격히 소멸되거나 교란되어 현재는 한강, 임진강, 섬진강의 일부 지역에서만 소량의 자연산 참게가 포획되고 있다. 최근의 2004년 환경부 조사와 본 조사에 따르면 시암습지 조간대 하부에서 참게가 채집되었고, 어민 조업을 통해 다수의 참게가 포획되고 있음이 관찰됨으로서 본 지역이 참게의 중요 서식처임이 재차 확인되었다.

애기참게는 과거에 강화도 동부수도에서 서식이 보고된 바 있으며(김과 최, 1982), 한강에서는 2004년 한강 하구역 생태계 정밀조사에 이어 본 조사를 통해 재차 서식이 확인되었다.

도약옆새우류(*Trinorchestia* sp.; Talitridae)는 일명 갯가톡톡벌레라고 불리는 단각류 절지동물로서, 우리나라에서는 노출된 모래 해변과 보호된 모래 해변 두 환경 모두에서 발견되는데, 한강 하구역 습지에서는 본 조사에서 처음으로 보고되었다. 이 종과 같은 속(Genus)에 속하는 긴꼬리도약옆새우류(*T. longiramus*)는 우리나라 동해안에서 흔하며, 특히 영일만 북쪽 모래 해변의 특징종 이었다 (Jo, 1990). 이 종의 생태적 특성은 기본적으로 야행성이고, 모래사장의 대조차 고조선 (High Water of Spring tide) 부근에서 서식하며, 파도에 떠밀려온 부유물이나 해조류 더미를 들춰보면 많이 발견되는 것으로 알려져 있다(Morino, 1972).

밀새우(*Palaemon carinicauda*)는 채니기(그랩 또는 원통코어)를 이용한 정량 채집을 통해서 발견되지 않았으나 전류리 포구 (조하대 정점 6 부근)에서 낭장망 새우 조업의 어획물을 통해 대량 서식을 확인하였다.

한강 본류를 제외한 하구역에서의 이매패류에 관한 연구는 유종생(1969)이 재첩(*Corbicula fluminea*)과 콩재첩을 보고한 것이 최초이며, 35년 후 2004년의 환경부 보고서를 통해 민물담치(*Limnoperna fortunei*)의 서식이 새로이 확인되었다. 그러나 본 조사에서는 콩재첩 1종만 채집되었다.

한강 하구역의 갯지렁이류에 관한 연구는 매우 미미하여 참고할만한 문헌이 마땅치 않다. 환경부(2005) 문헌에 따르면, 본 조사 범위와 동일한 한강 하구역에서 참갯지렁이(*Neanthes japonica*)와 북방백금갯지렁이(*Nephtys caeca*) 단 2종만 출현한 것으로 보고되었다. 그런데 참갯지렁이 속(Genus)으로 기재된 *Neanthes*는 최근의 분류학적 성과를 반영하여 *Hediste*로 바로잡아야 한다. *Hediste*는 아직 국내에 보고되지 않은 새로운 속명(genus name, 가칭 갯지렁이 속)으로서, 배가시 중에 침모양 가시 (simple chaetae)를 포함하는 특징을 갖고 있어 참갯지렁이 속 *Neanthes*와는 뚜렷이 구분된다. 일본 연구자 Sato and Nakashima(2003)는 아시아에서 *Hediste*에 속하는 3종 (*Hediste japonica*, *H.*

diadroma, *H. atoka*)을 보고하면서 우리나라의 인천 용유도와 금강 하구역에서 *Hediste japonica*가 출현한다고 보고하였다. 그러나 본 조사를 통해 채집된 한강 하구역 갯지렁이에서 *H. japonica*는 발견되지 않았고, 전부 *H. diadroma*인 것으로 밝혀졌다. 문헌에 따르면 *H. japonica*는 담수와 해수가 섞이는 기수역에서 출현하는 것으로 되어있으나, 본 조사지역과 같이 저층 염분도가 0.1 psu인 담수에서는 서식하기 어려운 것으로 추정된다. 반면에 *H. diadroma*는 담수와 해수 양쪽을 회유하는 특성을 따라 이름 지어진 것과 같이 본 조사지역에서 대량으로 출현하였다. 한편, 백금갯지렁이류는 조하대에서만 출현하였는데 기 자료에서 보고된 북방백금갯지렁이는 전혀 출현하지 않았고, 모든 정점에서 털보백금갯지렁이(*Nephtys ciliata*)만 출현하였다. 이 종은 입주머니(proboscis)의 등쪽에 중앙 돌기 (middorsal papilla)를 가지고 있어 북방백금갯지렁이와는 뚜렷이 구분되며, 한강에서는 첫 출현 보고이다(Fig. 3-2-7 & Fig. 3-2-8).

참게 (*Eriocheir sinensis*) (Fig. 3-2-9)는 우리나라와 중국의 황해와 연결되는 하천 수역에 분포하며, 예로부터 가을에 바다로 내려가는 것을 포획하여 식용으로 사용하는 종이다(한국동식물도감, 1973). 조사 지역 주변 수역에서는 김포시에서 어민 소득 향상을 위해 황복어와 더불어 참게의 치어 방류사업을 실시하고 있다. 자세한 참게 치어 방류 현황은 어업실태부분에 수록하였다.

조사 지역 3개 정점에서 포획된 11개체와, 조사 목적 외에 어획된 참게만 따로 채집한 19개체 등 총 30개체에 대한 갑장 (CL; carapace length)과 전중 (TW; total weight) 범위, 갑장-전중 관계식은 다음과 같다(Table 3-2-7; Fig. 3-2-10).

Table 3-2-6. 한강 하구역 (신곡수중보-전류리 사이)의 습지 조건대 및 조하대에서 출현한 대형저서동물 목록

학 명	국 명	환경부(2005)	본 조사
Mollusca	연체동물문		
Bivalvia	이매패강		
<i>Corbicula felnowilliana</i>	콩재첩	○	○
<i>Limnoperna fortunei</i>	민물담치	○	
Annelida	환형동물문		
Polychaeta	다모강		
<i>Nephtys caeca</i>	북방백금갯지렁이	○	
<i>Nephtys ciliata</i>	털보백금갯지렁이		○
<i>Neanthes japonica</i>	참갯지렁이	○	
<i>Hediste diadroma</i>	강갯지렁이류		○
Maldanidae sp.	대나무갯지렁이류		○
Arthropoda	절지동물문		
Crustacea	갑각강		
<i>Palaemon carinicaudata</i>	밑새우	○	○
<i>Palaemon annandalei</i>	실다리밑새우	○	
<i>Palaemon modestus</i>	각시흰새우	○	
<i>Trinorchestia</i> sp.	도약옆새우류		○
<i>Eriocheir sinensis</i>	참게	○	○
<i>Eriocheir leptognathus</i>	애기참게	○	○
<i>Ilyoplax deschampsii</i>	펼콩게	○	○
<i>Sesarma dehaani</i>	말뚝게	○	○
합계		11	10

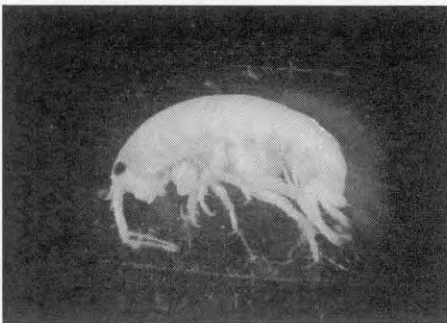
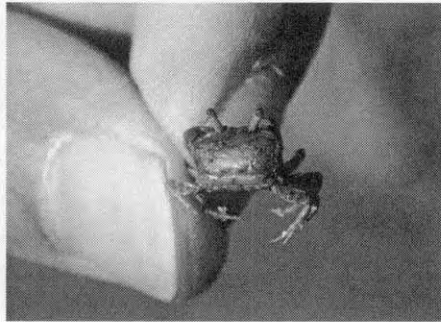
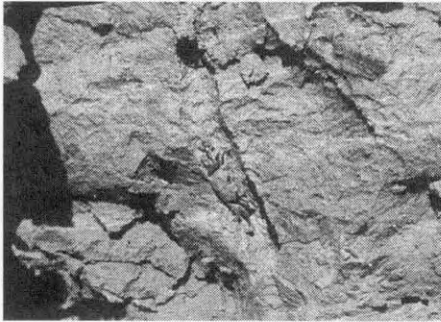
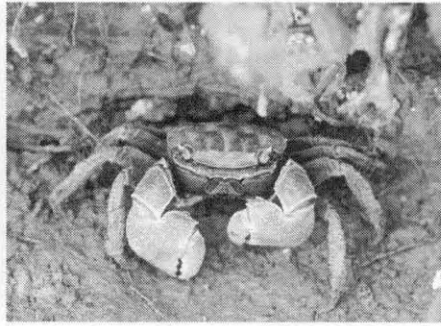


Fig. 3-2-7. 한강 하구역의 습지 조간대 및 조하대에서 출현한 대형 저서동물

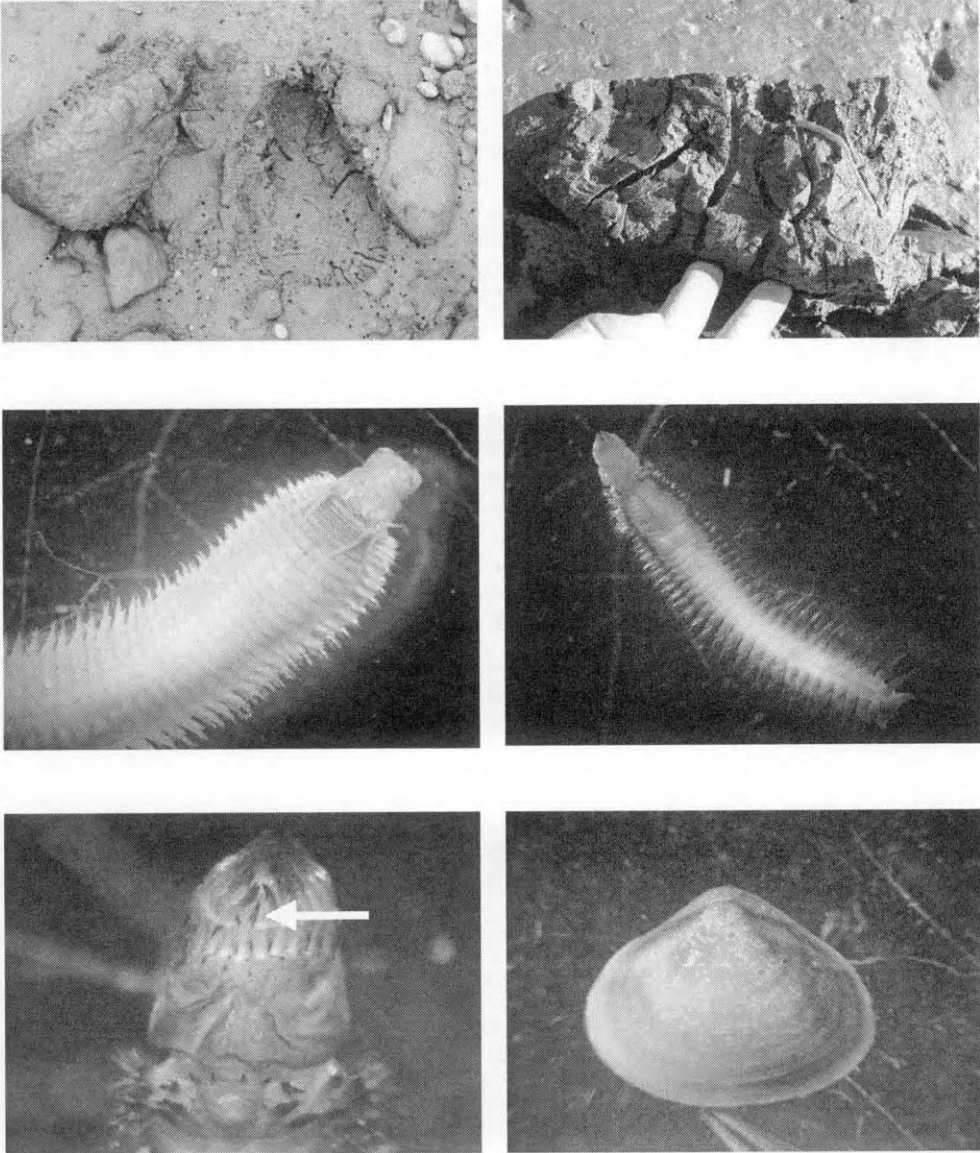


Fig. 3-2-8. 한강 하구역의 습지 조간대 및 조하대에서 출현한 대형저서 동물 (그림7에서 계속)



Fig. 3-2-9. 조사지역에서 홀자망에 채집된 참게

Table 3-2-7. 조사 지역 주변 수역에서 채집된 참게의 갑장(CL)과 전중(TW) 범위.

성별	개체수	갑장 범위(mm)	평균(mm)	전중 범위(g)	평균(g)	비고
암컷	17	44.12-58.85	50.20	52.06-119.63	73.72	
수컷	13	41.43-65.08	50.84	46.83-183.88	87.23	
합계	30	41.43-65.08	50.48	46.83-183.88	79.57	

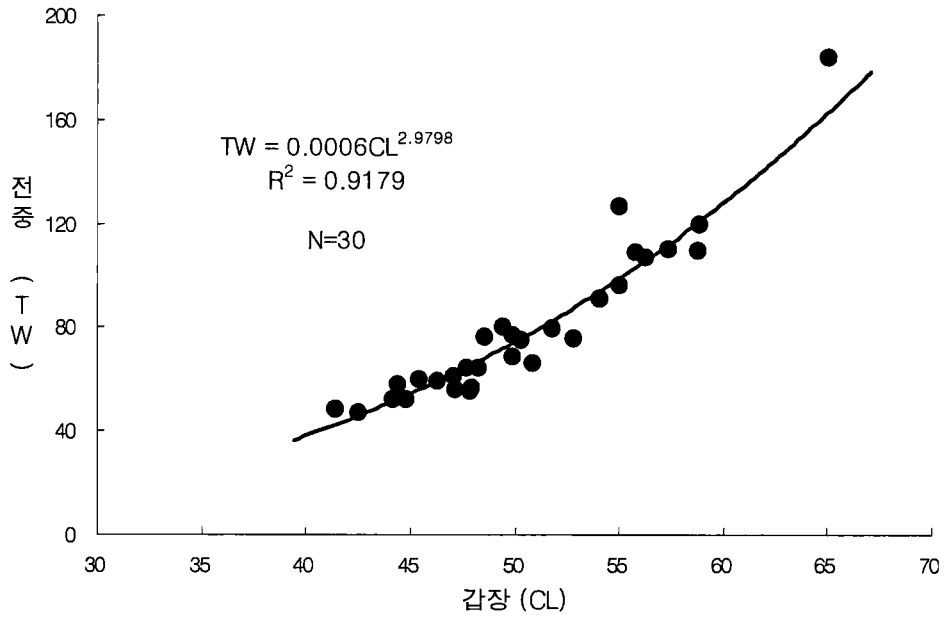


Fig. 3-2-10. 조사 지역 주변 수역에서 채집된 참게의 갑장-전중 관계식

라. 미기록 강어귀참갯지렁이 속¹⁾ (*Hediste*, Nereidae, Polychaeta)의 분류 및 생태의 기재

1) 하천의 감소역에 우점하는 갯지렁이류

우리나라의 경우 기수역에 서식하는 갯지렁이류의 생태는 물론이고 분류에 대해서도 구체적으로 연구된 바는 없다. 다만 해마다 참갯지렁이류가 생식 군영을 하는 이른 봄철에 한강 하류부 (김포시, 여의도, 잠실 수중보 부근)에 대량으로 출현하여 어민들이 쳐놓은 그물을 막히게 하거나 번식을 위해 대량으로 표면에 나타나 뉴스거리가 되곤 하는 것이 전부이다. 여기에서는 본 조사를 통해 밝혀진 일부 분류 및 생태학적 정보와 최근에 종설로서 잘 요약된 일본의 관련 연구 사례 (Sato, 2004)를 소개함으로써 앞으로의 연구 방향에 도움이 되고자 한다.

일본의 하천 감소역, 즉 기수 지역의 갯벌에서도 참갯지렁이과 다모류가 고밀도로 출현한다는 기록은 많다. 특히 강어귀참갯지렁이속 (*Hediste* spp.)는 전국 각 지역 기수역의 폭넓은 염분 환경하의 감소역 전역에 걸쳐 출현하고 가끔은 이 속에 속하는 종류들만으로 고밀도 집단을 형성한다. 그 현존량(습중량)을 보면, 예를 들어 미카와만에서는 최대 620g/m² (Nagai and Nagai, 1981), 아리아케해의 오무타川 하구에서는 1,700g/m² (Sato et al., 미발표)에 달한다는 보고가 있다.

하구 주변의 다소 고염분의 구역에서는 *Ceratonereis erythraeensis* 나 *Perinereis brevicrisis*가 많다. 반면, 감소역 상부의 저염분 구역에서는 *Tylorrhynchus heterochaetus*가 단독으로 혹은 *Hediste* 속(강어귀참갯지렁이 속)에 섞여 출현하는 수가 있다. 가고시마현의 나미오시마(庵美大島) 이남에는 *Namalycastis hawaiiensis* 가 기수역 뿐만 아니라 담수역에도 서식하고 있는 것으로 보고되었다 (Glasby, 1999).

1) 예전에는 *Neanthes* 라는 속으로 지금까지 우리나라에서 보고되었으나 최근 일본의 Sato and Nakashima, 2003)에 의하여 *Hediste*로 속을 바꿈에 따라 '강어귀참갯지렁이' 속으로 새로운 이름으로 신칭하였음.

2) 강어귀참갯지렁이 속의 분포와 생활사

강어귀참갯지렁이 속은 북반구의 온대역에서 지금까지 5종이 기재되어 있다. 유럽과 북아메리카 동안에는 서양강어귀참갯지렁이(*H. diversicolor*)가 분포하고 (Smith, 1977), 북아메리카 서안에는 담수강어귀참갯지렁이 *H. limnicola*가 분포한다 (Smith, 1958). 동아시아에서는 아리아케강어귀참갯지렁이(*H. japonica*) 외에 일본에서 새롭게 신종으로 보고된 *H. diadroma*와 *H. atoka* 등 3종이 알려져 있다 (Sato and Nakashima, 2003; Sato, 2004).

이들 5종은 형태적으로 매우 흡사하다(Smith, 1958; Sato and Nakashima, 2003). 그러나 어느 정도 형질의 차이가 나타나며 생활사 특성에 있어서는 더욱 현저하게 다르다 (Table 3-2-8).

담수강어귀참갯지렁이 (*H. limnicola*)는 자웅동체로 자가수정을 하고, 어미의 체내에서 초기 발생이 진행된 후 체장 4-8mm에 달한 자충(仔蟲)을 낳는다 (Smith, 1950, Fong and Pearse, 1992). 이러한 특이한 생활사는 본 종이 기수역 뿐만 아니라 담수역에 까지도 그 분포 범위를 넓히고 있다는 것과 관계가 있다고 생각된다. 다른 4종은 모두 자웅이체로서 기수역에 서식한다. 일본에서 보고된 3종에 대해서는 자웅의 성비가 대략이 1:1로 알려져 있고(Sato and Ikeda, 1992; Sato, 1999), 반면 서양강어귀참갯지렁이는 성비가 매우 암컷에 편중되어 있다는 것이 알려지고 있다 (Dales, 1950). 재미있는 것은 이 모든 종들이 일생에 1회 산란하고, 성체는 생식을 마친 뒤 죽는 참갯지렁이과 전체의 공통된 특성을 보인다 (Olive, 1983).

Table 3-2-8. Smith(1958), Sato and Nakashima(2003)에 근거한 강어귀 참갯지렁이 속(*Hediste*) 5종의 강모의 비교 (Sato, 2004).

종명	배족지		복족지(족자상부)		복족지(족자하부)				성숙개체의 체중부의 배족지와 복족지의 생식강모 ³⁾ 에의 추가
	침상 복강모	침상 복강모	단복 강모 ¹⁾	단일 강모 ²⁾	침상강모		단복강모		
	Ho	Ho	He		Ho	He	Ho	He	
<i>H.japonica</i>	○	○	○	○	○	×	○	○	×
<i>H.diadroma</i>	○	○	○	○	○	○	×	○	○
<i>H. atoka</i>	○	○	○	○	○	○	×	○	×
<i>H. diversicolor</i>	○	○	○	○	×	○	×	○	×
<i>H. limnicola</i>	○	○	○	○	○	○	×	○	×

Ho: Homogomph (관절부 상층형), He : Heterogomph (관절부 비상층형),
○:유, ×:무, 1)체전부, 2)체후부, 3)epitoke-specific sesquigomph spinigers

3) 동아시아에서 발견되는 강어귀참갯지렁이의 생식과 초기 생활사 특성

동아시아에서 발견되는 강어귀참갯지렁이의 생식과 초기 생활사 특성은 Table 3-2-9에 제시되어 있다. *H. japonica* 와 *H. diadroma* 두 종은 겨울에서 초봄에 걸쳐 생식군영(reproductive swarming)을 행하고 일생을 마친다. 즉, 자웅의 성숙 개체는 대부분 대조 시 밤의 만조시각 직후에 일체히 수중으로 헤엄쳐나가고 수중에서 방란, 방정한다(Izuka, 1908; Sato and Tsuchiya, 1987; Sato, 1999, 2001). 성숙 개체의 체벽은 매우 얇은 가죽과 같이 되어 체 내에 충만한 알과 정자의 색이 투명하게 보인다. 그래서 군영 중의 숫컷은 녹색, 암컷은 흰색으로 나타난다. *H. japonica*는 주로 12월에서 1월에 걸쳐 생식군영이 나타난다 (Sato and Nakashima, 2003). *H. diadroma*의 생식 시기는 지역에 따라 다소 다르나, 가고시마에서는 2월말에서부터 4월에 걸쳐 대조마다 생식 군영이 보이고, 다른 지방에서도 이 시기에서 기록이 많다 (Sato and Tsuchiya, 1987). 다만 아리아케해와 세토 내해에서는 *H. japonica*의 생식시기와 겹쳐지는 12월말에서 1월까지도 생식군영이 보인다 (Sato and Tsuchiya, 1987; Sato 등 미발표). 북해도에서는 6월의 기록이 있다 (Sato and Nakashima, 2003).

H. japonica 와 *H. diadroma* 2종은 발생 양식에 있어서도 부유 유생기를 가진다는 점에서 공통적이다. 어느 것이나 유생은 trochophore기에 수중을 자유로이 헤엄치는 습관을 비롯하여 nactochaeta 유생으로 변태한 후 갯벌에 착저하여, 저서생활로 이행한다 (Izuka, 1908; Sato and Tsuchiya, 1991). 다만, 알 크기가 큰(직경 180~210 μ m) *H. japonica*의 부유기간은 짧고 (약 10일), 알의 크기가 작은 (130~170 μ m) *H. diadroma*의 부유기간은 길다 (약 1개월). 두 종 모두 세대기간²⁾은 1년으로 생각되고, 비교적 큰 몸 크기로 성장한다 (고정 표본의 최대 체장은 약 15cm).

한편 *H. atoka*는 생식군영을 하지 않고, 암컷 소혈의 속 또는 그 주변에서 산란한다 (Sato and Tsuchiya, 1987). 숫컷은 수중의 밑바닥으로 헤엄치

2) 태어나서 생식에 참가하는 시기까지의 기간

Table 3-2-9. 강어귀참갯지렁이 속 5종의 생식과 발생형질의 비교 (Sato, 2004)

지리적분포와 종명	난경(μm)	발생양식 (부화시기)	생식양식	참고문헌
<i>H.japonica</i>	180-210	단기부유발생 (Trochophore 유생)	생식균영	Izuka(1908), Sato and Nakashima(2003)
<i>H.diadroma</i>	130-170	장기부유발생 (Trochophore 유생)	생식균영	Sato and Tsuchiya(1987, 1991), Sato(1999)
<i>H. atoka</i>	200-250	직달발생 (3강모절유치체)	소혈내에 산란	Sato and Tsuchiya (1987, 1991), Sato (1999)
<i>H. diversicolor</i>	195-275	저층발생 (Trochophore 유생)	소혈내에 산란 수컷이 작지않다(1~30%)	Dales (1950), Smith(1964), Bartels-Hardege and Zeeck(1990)
<i>H. limnicola</i>	120-170 210 *	태생 (20~30 강모절유치체)	자웅동체 · 자가수정	Smith(1950), * Fong and Pearse(1992)

면서 몸의 후반부에서 정자를 방출하는 것이 수조 사육에서 관찰되었는데 슛컷은 암컷 소혈의 입구 부근에서 정자를 방출하고 그것이 슛컷의 소혈 속에서 수류와 함께 같이 말려들어가 수정이 성립되는 것으로 추측된다 (Sato, 2001). 가고시마현과 미야기현에서는 주로 봄 (4~5월)과 가을 (9~10월), 아오모리현에서는 주로 초여름(6월경)에 많은 성숙 개체가 채집되는데, 그 밖의 시기에서도 성숙 개체는 소수이지만 보인다 (Sato and Tsuchiya, 1987; Kikuchi, 1998). 적어도 가고시마의 개체군에서는, 한여름의 한 번의 시기를 제외하고는 대부분 연간을 통해 생식이 이루어질 가능성이 높다. 세대시간은 반 년 정도나 (Kikuchi, 1998) 또는 더 짧을 가능성도 있고 비교적 작은 몸 크기 (고정 표본의 체대체장은 약 10cm)로 성성숙에 달한다(Sato, 2001).

*H. atoka*은 직달발생으로 부유유생기가 없다 (Sato and Tsuchiya, 1991). 즉, 큰 알 (직경 200~250 μ m)로 발생한 배는 젤리층에 포함된 채 trochophore 기를 거쳐, 3쌍의 parapodia를 지닌 nectochaeta기에 달한 유치체가 젤리 1층에 구멍을 뚫고 외부로 나와 곧바로 저서생활로 들어간다. 다만 4쌍 이상의 parapodia를 지닌 단계가 되면 만조 시 전후 (만조 시) 수중으로 헤엄쳐 나와 하천의 기수역 전체로 넓게 분산한다 (Kilucjhi, 1998; Sato 1999).

이상 3종의 생식과 발생 양식을 비교해 보면, 분명히 *H. japonica*와 *H. diadroma*가 닮았다. 그러나 이것은 반드시 계통적인 유연관계를 반영하고 있는 것이라고는 볼 수 없다. 형태형질로서도 이 두 종의 근연성이 시사된다 (Sato and Nakashima, 2003). 더욱이 생식군영 시 *H. diadroma*에서는 성숙 개체의 몸의 중부에 특수한 침상의 생식강모 (epitoke-specific sesquigomph)가 추가되는데 반하여 *H. japonica*에서는 그와 같은 특수한 강모가 보이지 않고 기존의 강모의 수가 증가한다. 아무튼 이들 2종의 생식군영 시의 형태변화 (생식 변태, epitokous metamorphosis)는 참갯지렁이과의 속에서는 유일한 것이다 (Sato and Nakashima, 2003). 참갯지렁이과의 다른 많은 종에서는 종간에 공통된 생식 변태의 특징으로서 체중부 및 체후부의 parapodia가 현저하게 변형하여, 그곳의 기존의 강모가 상의 엽신부를 가지는 생식강모로 치환된다. (그 결과 유영능력이 현저하게 증대한다). 이러한 특징을 가지지

않는 강어귀참갯지렁이 속의 생식 군영은 다른 많은 생식군영과는 독립적으로 진화했을 가능성이 있다. 다만 북일본 연안에 분포하는 *Neanthes virens*의 생식변태의 특징은 *H. diadroma*의 특징과 매우 흡사하다 (Imajima, 1972). 그 유사성이 계통진화의 근연성을 반영하고 있느냐가 금후의 흥미있는 과제가 된다.

4) 동아시아에서의 강어귀참갯지렁이의 분포

*H. diadroma*와 *H. atoka*는 일본의 경우를 보면 일단 넓게 분포하고 있으며, 양자가 동소적으로 공존하고 있는 경우가 많다. 한편 *H. japonica*는 모식산지인 세토내해와 가지마만을 제외하면 유명해 내만 안쪽과 황해 연안 (한국서안)의 펼갯벌에만 보인다. 이 모식산지인 가지마 만 갯벌은 간척사업 때문에 사라졌고 또 현재로서 세토내해에서의 서식은 알려지지 않고 있다. 유명해에서는 *H. diadroma*도 가끔 고밀도로 출현하고 *H. japonica*와 공존하고도 있으나, *H. atoka*는 지금까지 유명해에서는 별로 보이지 않았다. 한편 일본의 서안 (우리나라 동해 일본 쪽 해안)에서는 또 조사가 불충분하지만 지금까지는 *H. atoka*만 확인되고 있다. 중국의 황해 연안의 칭다오에서 3월에 생식군영을 한다는 종 (Sun et al., 1980; Qin and Wu, 1993)은 알 크기로 보아 *H. diadroma*로 판단된다 (Sato, 2004).

이들 종의 성체는 어느 것이나 갯벌 또는 그에 이어지는 천해역의 사니 속에, U자형을 기본으로 하는 소혈을 만들어 서식한다. 사니 표면에 퇴적하는 다양한 유기물을 섭식하고 있다고 생각되나 (Tsuchiya and Kurihara, 1979), 현재로서는 잘 알려지지 않고 있다. 입주머니 (특히 II구역) 위의 악편 수가 종에 따라 분명한 차이를 보이고 있는 것은 어떤 식성의 차이를 시사하고 있는 것으로 생각된다 (Sato and Nakashima, 2003).

5) 분포의 제한요인으로서의 조성

강어귀참갯지렁이 속 각 종의 분포에 영향을 미치는 환경 조건으로는 저질의 입도 조성, 염분 등 다양한 환경요인들이 있다고 생각되고 있는데 여기서 조석의 영향에 대해서 생각해본다. *H. japonica*의 분포는 동아시아에서 가장 조차가 큰 내만 해역의 펄 갯벌에 한하고 있다. (평균 최대조차가 3m 이상). 이러한 장소에서는 조류에 따른 해수의 교반 작용이 크기 때문에 갯벌의 표면에 퇴적된 저니는 만조 시에 파랑에 말아 올려져 부니가 되어 수중으로 현탁된다. *H. japonica*의 눈이 다른 2종에 비해 작은 것은 이 결과 탁해진 투명도가 낮은 물환경과 관계가 있는 것으로 생각된다. 내만성의 강한 종으로 눈이 작은 경향은 쪽붙이류(*Callianassa*)에서도 알려져 있다 (玉置, 2000).

이와 같은 장소에서는 *H. diadroma*가 공존하고는 있으나 *H. atoka*는 전혀 출현하지 않는다. *H. atoka*의 산란, 수정, 초기발생 등은 소혈의 속 또는 그 주변에서 진행되는 것으로, 적어도 그 기간 중에는 소혈이 안정되어 유지될 필요가 있다고 생각된다. 강한 조류에 따라 저질이 교란되는 아주 연한 개펄에는 그와 같은 소혈 유지가 곤란하기 때문에 *H. atoka*가 들어설 수 없을지는 모른다. 다른 관점에서 보면 *H. japonica*와 *H. diadroma*에 있어서 수중에서의 생식 (생식군영)과 초기발생(부유발생)은 그와 같은 환경에 적응한 특성일는지 모른다.

6) 동아시아의 강어귀참갯지렁이 속 3종의 검색표(Sato and Nakashima, 2003)

강어귀참갯지렁이 속은 체후부의 옆다리(parapodia, 腹足枝)에 단일강모(simple chaeta)를 지녔다는 점에서, 그것을 가지지 않는 *Neanthes* 속과 구별된다. *H. japonica*와 다른 2 종은 일반적인 현미경 관찰(parapodia와 강모의 형태)로 식별 가능하다. *H. diadroma*와 *H. atoka* 두 종은 미성숙한 개체로는 사실 엄밀한 식별이 곤란하다. 입주머니상의 II구의 악편수(顎片數)는 두 종간에 유의한 차이가 있으므로 (Sato and Nakashima, 2003), 동정의 판정은

쉬우나 차이의 폭이 중첩됨으로 이에 따라 종명을 특정짓는다는 것이 어렵다. 이 두 종은 동소적으로 서식하는 수가 많다.

1 복족지에 관절부 상칭형의 단복강모(*homogomph falciger*)를 가지고, 관절부 비상칭형의 침상 복강모(*heterogomph spiniger*)를 가지지 않는다. 복족지의 후족엽(*postsetal ligule*)의 선단부가 몸의 전체를 통해 뿔죽하게 되고, 지상돌기가 되어있다. 많은 경우 II구의 악편수는 좌우로 각각 10 이하 (합계, 20 이하) ----- *Hediste japonica*

- 복족지에 *homogomph falciger*를 가지지 않고 *heterogomph spiniger*를 가진다. 복족지의 *postsetal ligule*의 선단부는 체전부 (최초의 10~20 체절까지)로 선단이 뿔죽한 지상돌기로 되어 있으나, 체후부에는 돌기가 없다 -----
2

2 성숙개체의 *parapodia*에는 생식강모(*epitoke-specific sesquigomph spiniger*)가 추가된다. 성숙란의 직경은 $170\mu\text{m}$ 이하이다. 많은 경우 II구의 악편수는 좌우로 각각 10~20 (합계 20~40) ----- *Hediste diadroma*

- 성숙개체의 *parapodia*에는 *epitoke-specific sesquigomph spiniger*가 추가되지 않는다. 성숙란의 직경은 $200\mu\text{m}$ 이상이다. 많은 경우 II구의 악편수는 좌우로 각각 20 이상 (합계 40 이상) ----- *Hediste atoka*

7) 강어귀참갯지렁이 다양성의 생태학적 의미와 갯벌의 보전

강어귀참갯지렁이 속은 동아시아의 하구 갯벌에 있어서 저서생물 군집 중에서 가장 현존량이 큰 종의 하나로 하구생태계에 있어서 물질 순환의 중요한 역할을 담당하고 있다. 그 강어귀참갯지렁이 속이 단일의 종이 아니고,

동포종군으로 존재하는 것은 생태계 전체로서 어떤 의미를 가지는가에 대해서 고찰할 필요가 있다.

강어귀참갯지렁이 속은 옛날부터 낚시 미끼로서 사용되어 왔다는 것을 알 수 있으며 따라서 다양한 어류의 먹이로 되어 왔었다. 또 그것은 동아시아의 하구 갯벌에는 매년 가을에서 다음 해 봄에 걸쳐 날라오는 많은 철새(특히 도요새, 물떼새)에 있어서도 매우 중요한 먹이가 된다. 예를 들면 지바현 99리 사빈 남부에 위치하는 미야가와 하구 갯벌의 하마시기 (*Calidris alpina*)의 배설물 100개의 내용물을 조사한 연구에 따르면 그 중 78%에서 강어귀참갯지렁이 속의 것으로 생각되는 악, 단일강모, 복강모가 발견되고 있다(秋山, 2000). 이 같은 결과는 Sato 등의 나고야의 후지마에 갯벌 조사에서도 얻어지고 있다(Sato 私信).

강어귀참갯지렁이 속의 수명은 모두가 1년 또는 그 이내이고, 생식 후에는 성체로 죽는다. 만일 일본에서 *H. diadroma* 1종만 있다면 그 생식 시기의 직후(봄)에는 새가 포식할 수 있는 대형의 개체는 거의 없어질 것이다. 생활사가 다른 3종이 동일한 갯벌 또는 근접한 장소에 분포함에 따라 강어귀참갯지렁이 속은 새에 의해 안정적으로 이용될 수 있는 먹이자원으로 되어 있는 것으로 생각된다. 전술한 바와 같이 기수역의 갯벌에서는 강어귀참갯지렁이 속 동포종군이 고밀도로 출현하여 그곳의 니치를 독점하고 있고, 다른 대형 저서생물이 전혀 보이지 않는 것도 흔치 않게 관찰된다. 먹이원으로서 강어귀참갯지렁이 속에의 의존도가 높은 포식자로서는 강어귀참갯지렁이 속 동포종군의 다양성은 매우 중요하다고 생각된다.

마. 한강하구 저서무척추동물 조사에 대한 요약

한강하구 (신곡수중보~전류리) 인근의 장항습지, 산남습지, 시암습지 조간대 및 조하대에 서식하는 저서생물상 조사에서 절지동물 갑각강 십각목에 속하는 말뚝게(*Sesarma dehaani*), 필콩게(*Ilyoplax deschampsi*), 참게(*Eriocheir sinensis*), 애기참게(*Eriocheir leptognathus*), 밀새우(*Palaemon carinicauda*)와 단각목에 속하는 도약옆새우류(*Trinorchestia* sp.) 등 절지동물 6종과 강갯지렁이류(*Hediste diadroma*), 털보백금갯지렁이(*Nephtys ciliata*), 대나무갯지렁이류(*Maldanidae* sp.) 등 환형동물 3종과 연체동물 이매패강에 속하는 콩재첩(*Corbicula felnouilliana*) 1종 등 총 10종이 발견되었다. 특별히 이번 조사를 통해 그동안 참갯지렁이(*Neanthes japonica*)로 잘못 알려진 종의 분류학적 기재를 바로잡아 강어귀참갯지렁이류 중 1미기록종 *Hediste diadroma* 를 국내 최초로 보고하였고, 한강 하구역에서 도약옆새우류와 털보백금갯지렁이가 서식함을 처음으로 보고하였다. 본 조사에서 환경부 지정 멸종위기 야생동물은 출현하지 않았다.

제 3 절 한강하구 및 강화도 갯벌의 다모류 소화관에서 미생물자원 확보

1. 미생물 자원의 분리 및 확보

가. 한강하구 갯지렁이 및 한강하구수의 채취

담수와 기수와 만나는 기수역 지역인 한강하구에 서식하는 강어귀참갯지렁이와 상호작용하는 미생물을 배양하고 이들의 분자계통학적 다양성을 확인하기 위하여 곡릉천하구습지 및 장항습지에서 강물 및 다모류를 채취하였다. 채취한 연구정점은 Fig. 3-3-1에 제시되어 있다. 습지 조간대에 서식하는 대형저서동물상을 파악하기 위하여 장항습지 및 곡릉천하구습지를 조사지역으로 선정하였다. 군사시설지역이라 군당국과의 협의가 어려워 2007년 6월 25일에야 이 지역에서 채수 및 채취가 가능하였다. 2007년 6월 25일에 장항습지에서 그리고 2007년 7월 12일에 곡릉천하구습지에서 각각 조간대에 서식하는 대형저서동물상을 파악하고 이와 상호작용하는 미생물을 분리, 확보하는 목적으로 시료를 채취하였다. 장항습지의 만조선과 간조선 사이의 조간대 지역에 5개 정점을 설정하여 저서동물을 정량 채집하였다(Fig. 3-3-2). 채집방법은 단면적 80cm² 원통형 채니기를 사용하여 6회씩 퇴적물을 채취하고, 그물눈 크기가 1mm인 체로 걸러내어 생물을 채집하였다. 채취한 갯지렁이는 냉장상태에서 살아 있는 채로 실험실로 운반하였으며 곧바로 미생물을 분리하기 위하여 해부현미경 하에서 해부하였다. 곡릉천 하구습지에서는 다모류가 검출되지 않아서 장항습지의 강어귀참갯지렁이에 서식하는 미생물과의 비교를 위하여 강물을 채수하였다. 채수는 Niskin sampler를 이용하여 표층수를 채수하였으며 4 L 이상 채수한 후 멸균된 Polypropylene 병에 담아 냉장상태로 실험실로 운반하였다. 채수 및 채취시에 염도 및 온도를 측정하였다. 장항습지 및 곡릉천 강물 수온은 23.5℃로 같았으며, 염도 또한 0.1 psu로 같아 담수상태의 염도를 나타내었다.

나. 강화도 갯벌의 갯지렁이 채취

강화도 남단 갯벌은 우리나라 서해안에서 가장 규모가 큰 갯벌 중의 하나로, 조석이 전형적인 반일주조로 최대조차가 약 10 m 이며 한강으로 많은 양의 퇴적물이 유입되어 전 연안에 걸쳐 담수의 영향을 부분적, 계절적으로 받고 있는 하구형-삼각주형 갯벌이다(해양수산부, 2005). 이 지역의 생물상 중 대형 저서생물의 종조성과 서식밀도는 환형동물인 갯지렁이류 (Polychaeta)가 우점하는 것으로 조사되었다(해양수산부, 2003). 연구지역인 동검도 갯벌은 강화도 남단 갯벌의 동남부에 위치하는 섬으로 위도 37°34' -35' 70", 경도 126°30' -31' 에 놓여있다 (Fig. 3-3-1 참조). 면적은 1.81 km²로 총 해안선의 길이가 6.5 km이며(Choi *et al.*, 1997), 퇴적물은 땀(mud)로 이루어져 있으며 퇴적속도가 1.03~4.83 cm/yr로 비교적 빠른 퇴적이 일어나는 지역으로 보고되었다(Woo and Je, 2002). 또 한강으로부터 높은 유기물 유입이 일어남에 따라 혐기적 유기물 분해가 광범위하게 일어나는 지역이다(현 등, 2004). 연구시료 채취를 위하여 2007년 7월 동검도 갯벌에서 흰이빨참갯지렁이를 채취하였으며 갯지렁이는 살아 있는 상태에서 저온상태로 실험실로 운반되었다.



Fig. 3-3-1. The map of sampling area and sampling stations in Han river wetlands.

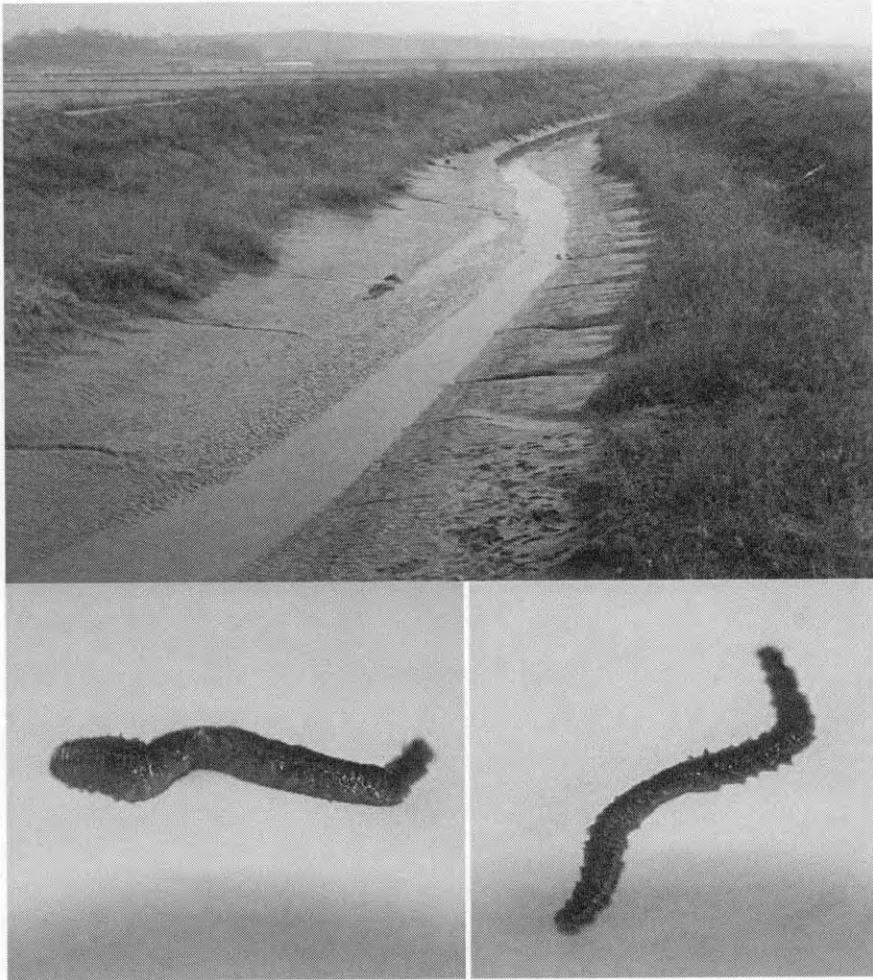


Fig. 3-3-2. Pictures taken from Janghang wetland and polychaeta.

다. 평판배지법을 이용한 미생물의 배양

장항습지 및 강화 동검도 갯벌에서 채취한 갯지렁이는 필터-멸균된 해수-증류수로 씻어주어 표면의 잔여물을 제거해 주었다. 무균의 환경에서 해부현미경을 이용하여 3마리의 갯지렁이 소화관을 적출하여 취하였다. 갯지렁이의 소화관을 핸드 스크루로 균질화 한 다음, 채취한 지역의 해수 및 기수를 멸균하여 제작한 수시료를 이용하여 10^{-1} ~ 10^{-4} 배로 희석하였다. 희석된 시료를 marine agar 2216 (MA, Difco)와 농도를 10^{-1} 로 희석시킨 R2A (1/10R2A, Difco) 고체배지에 희석된 샘플을 $100 \mu\text{l}$ 씩 접종-도말 한 후 $20\text{-}25^{\circ}\text{C}$ 에서 호기 상태로 2주 동안 암 배양하였다. 미생물 분리에 사용된 평판배지의 조성은 Table 3-3-1에 자세하게 제시되어 있다. 한강하구의 강물의 경우 멸균된 강물을 이용하여 원수를 희석한 다음 같은 방법으로 희석-도말하여 NA 및 1/10R2A 담수배지를 이용하여 콜로니의 성장을 관찰하였다. 평판배지를 사용하여 배양 후 colony forming unit (CFU)가 유효한 숫자인 30~300개가 나타난 배지에서 colony를 무작위로 고른 뒤 일차적으로 균주를 분리하였으며 이후 지속적인 계대를 수행한 후에 최종적으로 균주를 순수분리 하였다. 배양한 균주는 순수분리를 위해 단일 균주로 판단될 때까지 계대배양을 실시하였으며 순수 분리된 균주는 장기 보관을 위해 10% glycerol 현탁액으로 만들어 -70°C 에 동결 보관하였다.

Table 3-3-1. Composition of agar media used for cultivation studies.

Composition	Site	Polychaeta		River water	
	Media	MA (g/L)	M-1/10R2A (g/L)	NA (g/L)	1/10R2A (g/L)
Proteose peptone		5	0.05	5.0	0.05
Yeast extract		1	0.05	-	0.05
Beef extract		-	-	3.0	-
Ferric citrate		0.1	-	-	-
Sodium chloride		19.45	-	-	-
Magnesium chloride		5.9	-	-	-
Calcium chloride		1.8	-	-	-
Potassium chloride		0.55	-	-	-
Sodium bicarbonate		0.16	-	-	-
Potassium bromide		0.08	-	-	-
Strontium chloride		34 mg	-	-	-
Boric acid		22 mg	-	-	-
Sodium silicate		4 mg	-	-	-
Sodium Fluoride		2.4 mg	-	-	-
Ammonium nitrate		1.6 mg	-	-	-
Disodium phosphate		8 mg	-	-	-
Casamino acids		-	0.05	-	0.05
Dextrose		-	0.05	-	0.05
Soluble starch		-	0.05	-	0.05
Sodium pyruvate		-	0.03	-	0.03
Dipotassium phosphate		-	0.03	-	0.03
Magnesium sulfate		-	0.005	-	0.005
agar		15	15	15	15
aged seawater, ml		-	800	-	-
DDW, ml		1000	200	1000	1000

2. 분리된 미생물의 분자계통학적 분석

가. 미생물의 순수배양 결과

장항습지에서 채취한 강어귀참갯지렁이의 소화관을 적출하여 미생물 분리를 시도하였으며 최종적으로 MA 배지와 1/10R2A배지에서 각각 43개 및 41개의 분리주를 확보하였다. 전반적으로 콜로니의 형태는 다양하지 않아 최소한의 분리주만을 확보하였다(Table 3-3-2). 동검도의 갯벌에서 채취한 흰이빨참갯지렁이의 소화관에서는 다양한 형태의 콜로니를 확보할 수가 있었으며 이후 통계적인 처리를 고려하여 최종적으로 MA에서 50개, 1/10R2A에서 100개의 세균을 분리하였다. 한강하구의 강물에서는 NA 및 1/10R2A에서는 각각 80 균주를 확보하여 최종적으로 160균주를 확보하였다. 종합적으로 본 연구에서 확보한 미생물의 총수는 394주이며 이후 RFLP 분석을 통해서 확보한 최종적인 16S rRNA 유전자 염기서열의 개수는 177개이다. 이 연구에서 확보한 염기서열을 대상으로 분자계통학적 분석을 실시하여 각 균주의 계통학적 위치와 전체 확보된 균주의 계통학적 다양성을 분석하였다.

Table 3-3-2. The total number of isolates and 16S rDNA sequences obtained.

Samples	Number of isolates			Number of 16S rDNA sequenced isolates
	Medium			
	MA	NA	1/10R2A	
Polychaeta (Janghang)	43	-	41	23
River water (Gokleung)	-	80	80	56
Polychaeta (Donggeum)	50	-	100	98
total	93	80	221	177

나. 16S rRNA 유전자를 이용한 분자계통학적 분석방법

1) 핵산의 추출 및 증폭

순수 분리된 균주들로부터 16S rRNA 유전자를 증폭하기 위하여 DNA를 추출하였다. 분리된 세균이 그램 양성 세균인지 그램 음성 세균인지 모르는 상태에서 DNA 추출효율을 최대한 높이고자, lysozyme과 proteinase K를 사용한 다음 Qiagen DNeasy Tissue Kit (Qiagen)를 사용하여 DNA를 추출하여 50 μ l의 TE 완충용액에 현탁하였다. 16S rDNA 증폭을 위하여 genomic DNA 추출물에 변형된 primer 27F-B (5'-AGRGTTYGATYMTGGCTCAG-3')와 1492R(5'-GGYTACCTTGTTACGACTT-3')을 사용하였다(Cho and Giovannoni, 2004). PCR의 조건은 50% Acetamide, 10 X PCR buffer, 2.5 mM dNTPs, 1% BSA, 0.2 μ M primer, 1 U *Taq* DNA polymerase, 약 50 ng의 template DNA를 혼합하여 총 반응액의 부피를 50 μ l로 하였다. PCR에 이용된 핵산 증폭기는 Thermal Cycler PC-818 (ASTEC) 및 DNA Engine PTC-200 (BIO-RAD)의 2종이었다. 이후 DNA thermal cycler를 사용하여 94°C에서 3분간 반응 후 94°C에서 30초, 55°C에서 1분, 72°C에서 2분으로 35회 반복 반응 후 72°C에서 5분간 더 반응시켰다. PCR 산물은 1%의 agarose gel에서 전기영동 (1x TAE 완충용액)하여 EtBr (1mg/l)에 30초 염색, 30분 탈색시킨 후 UV transilluminator로 증폭여부를 확인하였다. 전기영동 확인 후 남은 PCR 산물을 정제하기 위해서 QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen)을 제조사의 방법대로 사용하였다. 전기영동으로 PCR 산물 확인 시 농도가 50 ng이하로 낮게 증폭된 PCR 산물은 변형된 primer 27F와 1406R (5'-ACGGGCGGTGTGTRC-3')을 사용하여 같은 조건으로 semi-nested PCR을 수행하여 재증폭하였다(Cho and Giovannoni, 2004). 증폭된 PCR 산물을 분석하기 위하여 1% agarose 겔에 PCR 반응액 2.5 μ l를 가하여 1X TAE 완충용액을 사용하여 전기영동 하였다. 전기영동 후 겔을 EtBr을 이용하여 염색하였으며, 탈색후 UV transilluminator로 관찰하여 약 1.5 kb의 크기를 지니

는 증폭된 DNA 절편을 확인하였다. PCR에 사용된 primer는 Table 3-3-3 에 자세히 제시되어 있다.

2) RFLP를 이용한 phylotype의 탐색 및 염기서열 결정

증폭된 PCR 산물이 동일한 phylogroup으로부터 유래된 것인 지를 확인하기 위하여 RFLP (restriction fragment length polymorphism) 방법을 사용하여 일차적으로 탐색, 염기서열분석을 최소화하고자 하였다. 증폭된 PCR 산물 2.5 μ l, 10 X restriction enzyme buffer 0.5 μ l, *Hae*III 2 unit를 포함하는 5 μ l 반응용액을 0.5 ml microcentrifuge tube에 잘 섞은 후 37°C에서 4시간 이상 반응하였다. 반응 산물 5 μ l에 10× loading buffer 0.5 μ l를 넣고 3% agarose gel (NuSieve 3:1 Agarose)에 주입한 다음, 50분 동안 전기영동하였으며, size marker로는 DNA Molecular Weight Standard Marker 100bp DNA Ladder (Takara, Japan)를 사용하였다. 전기영동을 마친 젤은 EtBr (1 mg/L)에 30초 동안 염색시킨 후 증류수에 30분에서 1시간 동안 탈색시켜 i-MAX™ Gel Image Analysis System (CoreBioSystem, Korea)으로 DNA band를 확인, RFLP 패턴을 분석하였다. 동일한 RFLP 형으로 구분된 균주들을 같은 그룹으로 확정하였으며 이 중 대표적인 균주의 PCR 반응산물을 염기서열 분석에 사용하였다. 증폭된 PCR 산물은 염기서열 분석을 위하여 QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN Corp.)을 사용하여 정제하였으며 16S rRNA 유전자의 염기서열은 Dideoxy sequencing 방법을 사용하여 Macrogen Corp.에 의뢰하여 확보하였다. 16S rRNA 유전자의 염기서열은 우선적으로 27F primer 혹은 800R을 사용하여 5' 말단의 염기서열 700 bp를 확보하였으며, 이후 신 분류군이 판단되는 미생물이라 판별되었을 경우에는 519F, 926F, 519R primer를 전체 16S rRNA 유전자의 염기서열을 확보하였다. 전체적으로 확보된 미생물 균주로부터 DNA의 추출은 성공적으로 진행되 PCR 및 RFLP 형을 확인할 수가 있었다. Fig. 3-3-3은 확보된 대표 미생물로부터 얻은 PCR 결과 및 RFLP 분석의 예이다.

Table 3-3-3. Sequences of primers used for bacterial 16S rDNA analysis.

Primer	Specificity	Sequence(5'-3')	Target* position
27F	Bacterial	5'-AGR GTT YGA TYM TGG CTC AG-3'	8-27
1492R	Bacterial	5'-GGY TAC CTT GTT ACG ACT T-3'	1510-1492
1406R	Bacterial	5'-ACG GGC GGT GTG TRC-3'	1420-1406
519F	Bacterial	5'-CAG CMG CCG CGG TAA TWC-3'	502-519
519R	Bacterial	5'-GWA TTA CCG CGG CKG CTG-3'	536-519
926F	Bacterial	5'-AAA CTY AAA KGA ATT GAC GG-3'	907-926
926R	Bacterial	5'-CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT-3'	945-926

* Sequence position of *E.coli*

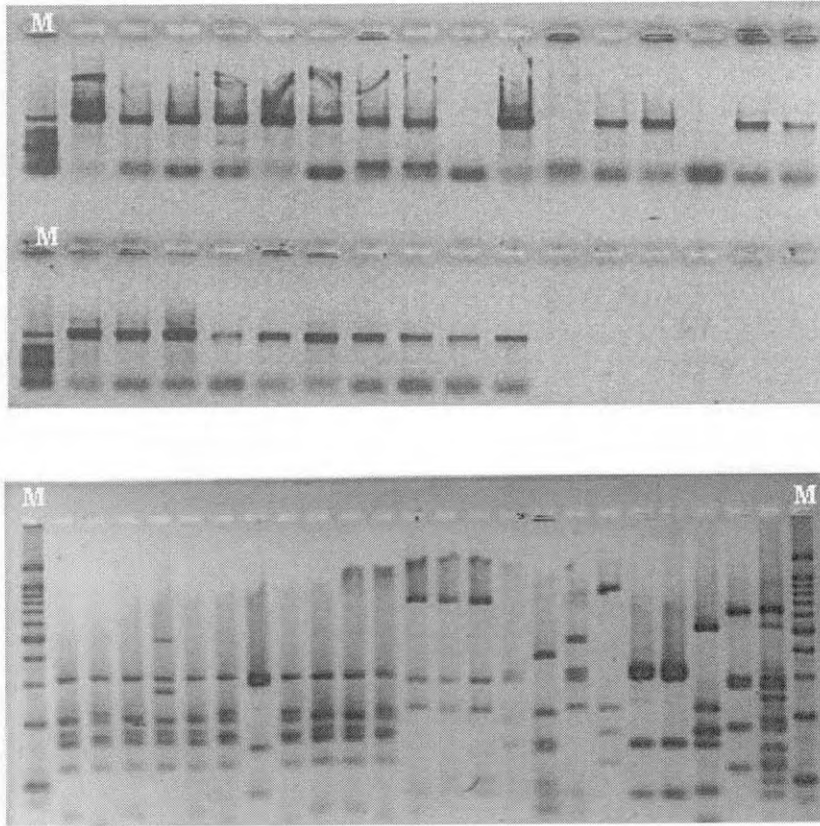


Fig. 3-3-3. Examples of gel electrophoresis using PCR products (A) and restriction fragment length polymorphism (B) obtained from the Han river wetlands. M: 100bp ladder.

3) 16S rRNA 유전자 염기서열의 분자계통학적 분석

확보된 16S rRNA 유전자는 대략적인 분리군주의 계통학적 위치를 확인하기 위하여 GenBank에서 운영하는 BLASTN network 서비스(Altschule et al., 1997)와 RDP-II 사이트를 이용하여 비교하였다. 또한 EzTaxon server (www.eztaxon.org, Chun et al., 2007)를 통해 공인된 대표종과의 비교를 하였다. 16S rRNA 유전자의 염기서열은 Linux system에서 유지되며 50,000개 이상의 미생물 16S rRNA 유전자의 배열정보가 들어 있는 ARB 데이터베이스 (Ludwig et al., 2004)에 포함된 16S rRNA 염기서열과 정렬하였다. 염기서열의 정렬은 PT-server를 이용, 계통학적으로 가장 가까운 참고염기서열의 정렬을 기반으로 자동적으로 수행하였으며, 세밀한 정렬은 16S rRNA의 2차 구조를 고려하여 수작업으로 다시 확인하였다. 16S rRNA의 2차 구조에 의해 비교유전학적으로 정렬된 염기서열을 참고염기서열과 함께 선택하여 ARB database에 내장되어 있는 다양한 계통학적 분석을 시도하였다. 계통학적 분석에 사용되는 mask는 ARB에 내장되어 있는 Bacteria-specific Lane mask, 선택된 염기서열의 50%이상에서 항상적으로 보전되는 염기를 기반으로 작성된 mask, 각 분류그룹에 고유한 mask 등을 사용하였다. 선택된 mask를 이용하여 ARB 데이터베이스에 내장되어 있는 PHYLIP package, parsimony insert tool 등을 이용하여 Jukes-Cantor evolutionary distance, 혹은 Kimura-2 parameter를 이용하여 neighbor-joining 계통도를 구하였으며, PHYLIP package를 이용하여 maximum likelihood 분석 또한 시도하였다. 한편 염기서열 간의 유사도는 Jukes and Cantor distance formula (Jukes and Cantor, 1969)를 사용하여 계산하였다. 계통분석은 PAUP* 4.0 beta 10(Swofford, 2002) 을 사용하였고 같은 프로그램 내에서 계통 분석도를 Kimura two-parameter(Kimura, 1980) 를 한 neighbor-joining(Saitou & Nei, 1987), maximum parsimony(Fitch, 1971) 그리고 maximum likelihood(Felsenstein, 1981) 방법을 사용하여 나타내었다. 또한 neighbor-joining 및 maximum-parsimony 계통도의 결과는 안정도를 조사하

기 위하여 1,000번의 bootstrap 분석 및 100번의 resampling을 실시하여 계통 분석도에 나타내었다.

다. 16S rRNA 유전자 염기서열의 유사도 분석

본 연구에서 분리한 균주로부터 확보된 16S rRNA 유전자를 바탕으로 분리균주와 비교유전학적으로 가장 가까운 미생물을 확인하기 위하여 BLAST-N 검색을 수행하였다. 분리된 균주의 신종 유무를 파악하기 위하여 유효하게 명명된 미생물 중에서 가장 가까운 미생물을 BLAST-N과 RDP-II의 sequence match를 이용한 결과를 바탕으로 ARB database에서 탐색하였다. 유효하게 명명된 미생물을 쉽게 확인하기 위하여 서울대 천종식 교수팀에서 운영하는 EZTAXON (<http://extaxon.snu.ac.kr>)의 데이터베이스를 참조하였다. 16S rRNA 유전자 염기서열의 유사도는 ARB database에서 Jukes-Cantor distance 방정식을 이용하여 구하였다. 확보된 염기서열의 DB 검색결과를 바탕으로 *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Planctomycetes*에 해당하는 균주들의 종합적인 결과표는 Table 3-3-3에 정리되어 있다.

전체적으로 본 연구결과 한강하구에서 서식하는 강어귀참갯지렁이에서 확보한 미생물의 계통학적 가장 낮았으며 *Gammaproteobacteria*에 그 분포가 국한되는 양상을 나타내었다. 곡릉천의 강물에서는 MA나 1/10 R2A의 배지의 종류에 따른 특징적인 미생물의 분포양상은 관찰되지 않았으며 전체적으로 5개의 강과 문에 분포하였다. 한편 동검도 갯벌의 흰이빨참갯지렁이에서 확보한 미생물은 MA배지보다는 빈영양배지인 1/10R2A배지에서 문/강에 소속된 미생물의 다양성이 더 큼을 확인할 수 있었는데 이는 부영양배지가 다양한 미생물의 서식환경을 반영하지 못하는 한계에서 비롯된 것으로 추정된다. 전체적으로 흰이빨참갯지렁이에서 분리된 미생물은 총 7개의 문/강에 분포하여 가장 높은 다양성을 보였다.

Table 3-3-4. Number of isolates identified by PCR-RFLP-sequencing and summary of phylogenetic analyses

Sample	Polychaeta from Janghang		River water from Gokleung		Polychaeta from Donggeum	
	MA	1/10R2 A	NA	1/10R2 A	MA	1/10R2 A
Number of isolates	43	41	80	80	50	100
Number of isolates analyzed by RFLP	42	33	45	66	47	84
Number of 16S rRNA gene sequences obtained.	19	4	23	39	30	67
Number of sequence in <i>Alphaproteobacteria</i>	-	-	3	8	17	39
Number of sequence in <i>Betaproteobacteria</i>	-	-	14	8	-	1
Number of sequence in <i>Gammaproteobacteria</i>	13	4	4	7	8	9
Number of sequence in <i>Bacteroidetes</i>	-	-	1	15	5	11
Number of sequence in <i>Firmicutes</i>	3	-	-	-	-	4
Number of sequence in <i>Actinobacteria</i>	3	-	1	1	-	3
Number of sequence in <i>Planctomycetes</i>	-	-	-	-	-	1

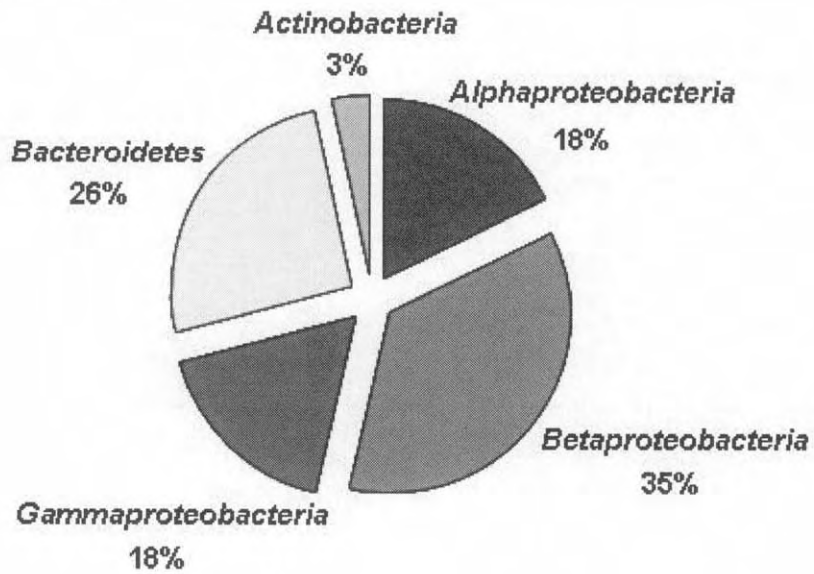
1) 장항습지 다모류 소화관 내 미생물

장항습지에서 확보된 강어귀갯지렁이의 소화관에서 호기성 미생물을 평판배지법으로 분리하였다. 총 84개의 미생물 균주가 분리되어 확보되었는데 이중에서 75개의 미생물로부터 PCR-RFLP 패턴분석을 하였다. 특히 1/10R2A에서 확보한 미생물의 경우 33개의 미생물은 총 4개의 RFLP형으로 분류가 되어서 다양성이 극히 낮은 것으로 나타났으며 이들 4개의 미생물은 염기서열분석결과 모두 *Gammaproteobacteria*로 분류가 되었다. 각 균주별로 유효하게 명명된 미생물 중 가장 가까운 미생물, 이들의 강(class)과 문(phylum), 그리고 16S rRNA 염기서열의 유사도는 Table 3-3-4에 제시되어 있다.

RFLP 형으로 그룹이 지워진 각 미생물들 중 대표적인 미생물의 염기서열을 분석을 하였으며 총 23개의 부분적인 (약 600 bp) 16S rRNA 유전자 염기서열을 확보하였다. Table 3-3-4에서 나타나듯이 장항습지 다모류 소화관 내 미생물은 대부분 기존에 이미 분석이 되고 표준균주로 등록되어 공인된 미생물과 97%이상의 염기서열의 유사도를 나타내어 새로운 분류군이 거의 없는 것으로 나타났다. 유일하게 균주 IMCC6337이 *Lactococcus plantarum* NCDO 1869T (X54259) 과 94.9%의 16S rRNA 유전자 유사도를 나타내어 신종으로 판명되었다 (Stackebrandt and Goebel, 1994). 이 신종해당미생물의 계통학적 분석은 다음 절에 자세히 제시되고 있다.

장항습지에 서식하는 강어귀갯지렁이의 소화관에서 분리된 미생물의 다양성은 곡릉천 하구습지의 강물에서 분리한 미생물의 다양성과 비교하여 볼 때 매우 낮은 것으로 나타났다(Fig. 3-3-4). 분리균주의 74%가 *Gammaproteobacteria*에 속했으며 *Actinobacteria*와 *Firmicutes*에 각각 13%의 미생물 균주가 해당하였다.

River water



Polychaeta

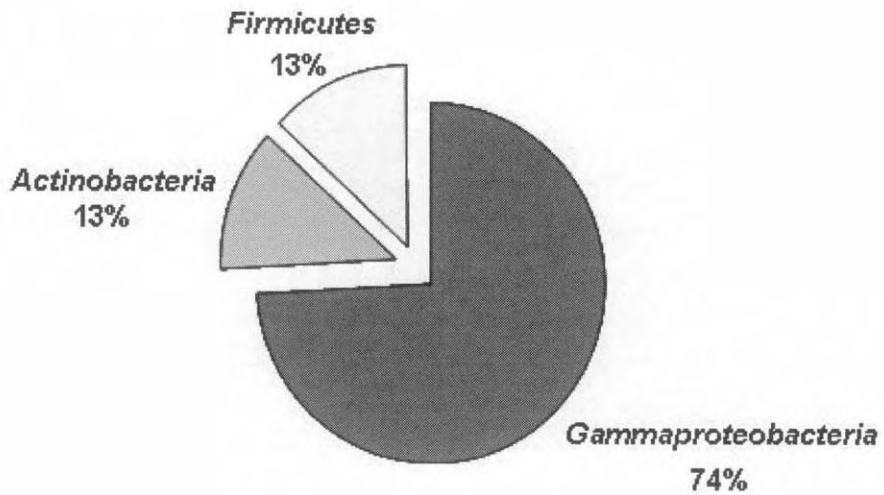


Fig. 3-3-4. Phylogenetic composition of bacterial isolates retrieved from Gokleung wetland river water and polychaeta digestive tracts.

Table 3-3-5. Summary of comparative 16S rRNA gene analyses from polychaeta in the Janghang wetland. (Abbreviations: Alpha, Alphaproteobacteria; Gamma, Gammaproteobacteria; Firm, Firmicutes; Act, Actinobacteria)

Isolates	The closest validly published species (Accession number)	Similarity (%)	Phylum/ Class
IMCC6302	<i>Enterobacter kobei</i> CIP 105566T (AJ508301)	99.17	Gamma
IMCC6304	<i>Nocardioides terrigena</i> DS-17T (EF363712)	99.58	Act
IMCC6305	<i>Enterobacter ludwigii</i> DSM 16688T (AJ853891)	99.59	Gamma
IMCC6306	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>dhakensis</i> LMG 19562T (AJ508765)	99.73	Gamma
IMCC6308	<i>Lactococcus garvieae</i> ATCC 49156T (L32813)	99.59	Firm
IMCC6310	<i>Citrobacter murlinae</i> CDC 2970-59T (AF025369)	99.73	Gamma
IMCC6313	<i>Dietzia cinnamea</i> DSM 44904T (AJ920289)	99.27	Act
IMCC6314	<i>Aeromonas caviae</i> ATCC 15468T (X74674)	99.17	Gamma
IMCC6324	<i>Shewanella hafniensis</i> ATCC BAA-1207T (AB205566)	99	Gamma
IMCC6326	<i>Lactococcus garvieae</i> ATCC 49156T (L32813)	100	Firm
IMCC6328	<i>Escherichia fergusonii</i> ATCC 35469T (AF530475)	99.72	Gamma
IMCC6329	<i>Aeromonas media</i> ATCC 33907T (X74679)	99.72	Gamma
IMCC6335	<i>Nocardioides exalbidus</i> RC825T (AB273624)	98.7	Act
IMCC6337	<i>Lactococcus plantarum</i> NCDO 1869T (X54259)	94.9	Firm

Isolates	The closest validly published species (Accession number)	Similarity (%)	Phylum/ Class
IMCC6338	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>dhakensis</i> LMG 19562T (AJ508765)	100	Gamma
IMCC6340	<i>Enterobacter kobei</i> CIP 105566T (AJ508301)	99.29	Gamma
IMCC6366	<i>Aeromonas veronii</i> ATCC 35624T (X60414)	99.6	Gamma
IMCC6375	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>dhakensis</i> LMG 19562T (AJ508765)	100	Gamma
IMCC6377	<i>Shewanella hafniensis</i> ATCC BAA-1207T (AB205566)	98.99	Gamma
IMCC6381	<i>Enterobacter kobei</i> CIP 105566T (AJ508301)	99.04	Gamma
IMCC6382	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>dhakensis</i> LMG 19562T (AJ508765)	100	Gamma
IMCC6383	<i>Citrobacter freundii</i> DSM 30039T (AJ233408)	99.86	Gamma
IMCC6384	<i>Aeromonas veronii</i> ATCC 35624T (X60414)	99.3	Gamma

2) 곡릉천 하구습지 강물 서식 미생물

곡릉천의 하구습지에서는 다모류가 관찰이 되지 않았으며 미생물의 분리 및 이들 미생물과 하구습지 서식 갯지렁이와의 관계를 살펴보기 위하여 하구 강물을 채취하여 미생물을 분리하여 분자생물학적으로 동정을 하였다. 곡릉천 강물에서는 총 160 주의 미생물이 분리되었으며 이중에서 111주의 미생물로부터 PCR-RFLP형이 확인이 되었다. 같은 RFLP형에 해당하는 미생물 그룹 중 대표적인 미생물로부터 총 62개의 염기서열을 확보하였다. NA와 1/10R2A에서 분리된 미생물은 모두 같은 수의 문/강에 분포하고 있었지만 *Bacteroidetes* 문에 해당하는 미생물은 1/10R2A에서 15개의 염기서열이 확보된 반면, NA에서는 한 개의 염기서열이 확보되어 대조를 이루었다. 각 균주별로 유효하게 명명된 미생물 중 가장 가까운 미생물, 이들의 강(class)과 문(phylum), 그리고 16S rRNA 염기서열의 유사도는 Table 3-3-5에 제시되어 있다. 전체적으로 하구 강물 서식 미생물은 *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*의 강/문에 해당하였다.

총 60개의 염기서열을 대상으로 comparative 16S rRNA 유전자 염기서열의 유사도 분석을 수행한 결과 이들 중 24개의 미생물이 기존에 알려진 유효 명명 세균과 97% 미만의 염기서열의 유사도를 나타내어 이들 24개의 미생물이 새로운 분류군에 해당하고 있음을 확인하였다. 전체적으로 *Alphaproteobacteria*에는 신종에 해당하는 미생물 균주가 6주, *Betaproteobacteria*에는 신종 미생물 균주가 7주, *Gammaproteobacteria*에는 신종 미생물 균주가 2주, *Bacteroidetes*에는 신종 미생물 균주가 2주, *Actinobacteria*에는 신종에 해당하는 미생물 균주가 6주가 분리, 동정되었다. 이를 근거로 보아 담수와 염수가 만나는 한강하구에는 아직 배양되지 않은 많은 수의 신종이 존재하고 있음이 확인되었다. 본 연구의 결과 확보된 신종은 이후 다상 분류(polyphasic taxonomy)에 기반하여 동정 및 분류를 수행하여 국제학술지 및 국제학회에 표준균주로서 등록할 예정이다.

Table 3-3-6. Summary of comparative 16S rRNA gene analyses from river water in Gokleung wetland area. (Abbreviations: Alpha, Alphaproteobacteria; Beta, Betaproteobacteria; Gamma, Gammaproteobacteria; Bac, Bacteroidetes; Act, Actinobacteria)

Isolates	The closest sequence of validly published species (Accession number)	Similarity (%)	Phylum/ Class
IMCC6404	<i>Curvibacter delicatus</i> LMG 4328T (AF078756)	96.25	Beta
IMCC6406	<i>Polynucleobacter necessarius</i> ATCC 30859 (X93019)	99.16	Beta
IMCC6409	<i>Acidovorax temperans</i> CCUG 11779T (AF078766)	98.88	Beta
IMCC6411	<i>Nocardioides aestuarii</i> JCM 12125T (AY423719)	96.79	Act
IMCC6412	<i>Achromobacter spanius</i> LMG 5911T (AY170848)	96.24	Beta
IMCC6413	<i>Propionivibrio limicola</i> GolChi1T (AJ307983)	94.47	Beta
IMCC6415	<i>Pseudomonas knackmussii</i> B13T (AF039489)	98.07	Gamma
IMCC6418	<i>Comamonas aquatica</i> LMG 2370T (AJ430344)	98.86	Beta
IMCC6419	<i>Comamonas aquatica</i> LMG 2370T (AJ430344)	98.85	Beta
IMCC6430	<i>Sphingomonas subterranea</i> SMCC B0478T (U20773)	98.08	Alpha
IMCC6432	<i>Thermomonas brevis</i> LMG 21746T (AJ519989)	97.55	Gamma
IMCC6433	<i>Pseudomonas otitidis</i> DSM 17224T (AY953147)	97.8	Gamma
IMCC6434	<i>Xylophilus ampelinus</i> LMG 5856T (AF078758)	97.24	Beta
IMCC6438	<i>Sphingomonas stygia</i> SMCC B0712T (U20775)	95.48	Alpha

Isolates	The closest sequence of validly published species (Accession number)	Similarity (%)	Phylum/ Class
IMCC6445	<i>Propionivibrio limicola</i> GolChi1T (AJ307983)	94.41	Beta
IMCC6446	<i>Acidovorax temperans</i> CCUG 11779T (AF078766)	98.86	Beta
IMCC6451	<i>Hydrogenophaga defluvi</i> DSM 15341T (AJ585993)	98.86	Beta
IMCC6452	<i>Acidovorax temperans</i> CCUG 11779T (AF078766)	98.75	Beta
IMCC6453	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ATCC 13637T (AB008509)	98.74	Gamma
IMCC6454	<i>Flavobacterium soli</i> KCTC 12542T (DQ178976)	94.11	Bac
IMCC6456	<i>Hydrogenophaga palleronii</i> DSM 63T (AF019073)	97.48	Beta
IMCC6457	<i>Acidovorax temperans</i> CCUG 11779T (AF078766)	98.5	Beta
IMCC6469	<i>Sphingomonas subterranea</i> SMCC B0478T (U20773)	98.38	Alpha
IMCC6482	<i>Flexibacter aurantiacus</i> ATCC 23107T (M62792)	95.92	Bac
IMCC6483	<i>Rhodobacter capsulatus</i> ATCC 11166T (D16428)	96.66	Alpha
IMCC6484	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ATCC 13637T (AB008509)	99.03	Gamma
IMCC6487	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> e-p10T (AJ293463)	99.16	Gamma
IMCC6491	<i>Flexibacter aurantiacus</i> ATCC 23107T (M62792)	95.36	Bac
IMCC6493	<i>Flexibacter aurantiacus</i> ATCC 23107T (M62792)	96.16	Bac
IMCC6494	<i>Arcicella aquatica</i> NO-502T (AJ535729)	92.07	Bac
IMCC6498	<i>Acidovorax delafieldii</i> ATCC 17505T (AF078764)	99.17	Beta
IMCC6499	<i>Hyphomicrobium hollandicum</i> ATCC 27498T (Y14303)	92.81	Alpha

Isolates	The closest sequence of validly published species (Accession number)	Similarity (%)	Phylum/ Class
IMCC6500	<i>Flavobacterium aquidurense</i> WB-1.1.56T (AM177392)	95.3	Bac
IMCC6501	<i>Sphingomonas melonis</i> DSM 14444T (AB055863)	99.55	Alpha
IMCC6502	<i>Sphingomonas stygia</i> SMCC B0712T (U20775)	98.06	Alpha
IMCC6503	<i>Rhodobacter azotoformans</i> KA25T (D70846)	93.82	Alpha
IMCC6505	<i>Pseudoxanthomonas yeongjuensis</i> GR12-1T (DQ438977)	97.85	Gamma
IMCC6506	<i>Hyphomicrobium hollandicum</i> ATCC 27498T (Y14303)	92.79	Alpha
IMCC6509	<i>Hydrogenophaga pseudoflava</i> ATCC 33668T (AF078770)	97.14	Beta
IMCC6515	<i>Hydrogenophaga defluvii</i> DSM 15341T (AJ585993)	99.86	Beta
IMCC6516	<i>Flexibacter aurantiacus</i> ATCC 23107T (M62792)	95.65	Bac
IMCC6519	<i>Curvibacter gracilis</i> 7-1T (AB109889)	95.15	Beta
IMCC6523	<i>Acidovorax delafieldii</i> ATCC 17505T (AF078764)	99.18	Beta
IMCC6524	<i>Rhizobium vitis</i> NCPPB 3554T (D14502)	97.78	Alpha
IMCC6525	<i>Comamonas denitrificans</i> 123T (AF233877)	97.3	Beta
IMCC6526	<i>Arcicella aquatica</i> NO-502T (AJ535729)	92.13	Bac
IMCC6527	<i>Massilia dura</i> KCTC 12342T (AY965998)	96.36	Beta
IMCC6528	<i>Pseudomonas extremorientalis</i> KMM 3447T (AF405328)	99.45	Gamma
IMCC6532	<i>Acinetobacter haemolyticus</i> DSM 6962T (X81662)	96.9	Gamma

Isolates	The closest sequence of validly published species (Accession number)	Similarity (%)	Phylum/ Class
IMCC6534	<i>Cloacibacterium normanense</i> DSM 15886T (AJ575430)	99.29	Bac
IMCC6535	<i>Flexibacter aurantiacus</i> ATCC 23107T (M62792)	95.63	Bac
IMCC6538	<i>Micromonospora matsumotoense</i> IMSNU 22003T (AF152109)	98.31	Act
IMCC6539	<i>Comamonas denitrificans</i> 123T (AF233877)	97.32	Beta
IMCC6545	<i>Acinetobacter haemolyticus</i> DSM 6962T (X81662)	96.39	Gamma
IMCC6546	<i>Rhodobacter capsulatus</i> ATCC 11166T (D16428)	95.37	Alpha
IMCC6547	<i>Flexibacter aurantiacus</i> ATCC 23107T (M62792)	95.24	Bac
IMCC6548	<i>Flavobacterium johnsoniae</i> ATCC 17061T (M59051)	93.85	Bac
IMCC6550	<i>Pseudomonas extremorientalis</i> KMM 3447T (AF405328)	98.76	Gamma
IMCC6551	<i>Chryseobacterium indologenes</i> ATCC 29897T (M58773)	97	Bac
IMCC6554	<i>Flexibacter aurantiacus</i> ATCC 23107T (M62792)	92.83	Bac
IMCC6557	<i>Flexibacter aurantiacus</i> ATCC 23107T (M62792)	95.36	Bac
IMCC6560	<i>Flexibacter aurantiacus</i> ATCC 23107T (M62792)	95.9	Bac

3) 동검도 갯벌서식 갯지렁이 소화관 내 미생물

동검도의 갯벌에 서식하는 국내 특이종인 흰이빨참갯지렁이에서 MA 배지 및 M-1/10R2A를 이용하여 각각 50, 100 균주를 확보하였다. 총 150 균주 중 분리과정에서 사멸한 미생물 균주를 제외하고 137개의 균주를 대상으로 핵산을 추출하고 RFLP 형을 분석하였다. 같은 RFLP형에 해당하는 미생물 그룹 중 대표적인 미생물로부터 총 97개의 염기서열을 확보하였다. 이 중 부영양배지인 MA에서는 총 30여 염기서열을 확보하였고, 빈영양배지인 M-1/10R2A 배지에서는 총 67개의 염기서열을 확보하였다. 전체적으로 총 7개의 문/강에 해당하는 미생물들이 동정되었으며 이 중 *Alphaproteobacteria*가 전체의 58%, *Gammaproteobacteria*가 18%, *Bacteroidetes*가 15%, 그리고 *Planctomycetes*, *Actinobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Fimicutes*가 각각 1-4% 정도를 차지하고 있었다(Fig. 3-3-5).

각 균주별로 유효하게 명명된 미생물 중 가장 가까운 미생물, 이들의 강(class)과 문(phylum), 그리고 16S rRNA 염기서열의 유사도는 Table 3-3-6에 제시되어 있다. 총 97개의 염기서열을 대상으로 comparative 16S rRNA 유전자 염기서열의 유사도 분석을 수행한 결과 이들 중 45개의 미생물이 기존에 알려진 유효명명 세균과 97% 미만의 염기서열의 유사도를 나타내어 이들 45개의 미생물이 새로운 분류군에 해당하고 있음을 확인하였다. 전체적으로 *Alphaproteobacteria*에는 신종에 해당하는 미생물 균주가 25주, *Gammaproteobacteria*에는 신종미생물 균주가 5주, *Bacteroidetes*에는 신종 미생물 균주가 12주, *Actinobacteria* 1주, *Firmicutes* 1주, *Actinobacteria* 1주가 분리, 동정되었다. 이러한 점으로 보아 미세콜로니법에 기초하여 확보한 갯벌서식 갯지렁이 소화관 미생물은 다양한 새로운 미생물을 보유하고 있는 다양한 미생물 자원의 보고라는 사실을 확인할 수가 있었으며, 이후 다상분류를 통하여 본 과제에서 확보한 신종을 국제학회에 보고하고자 한다.

Polychaeta

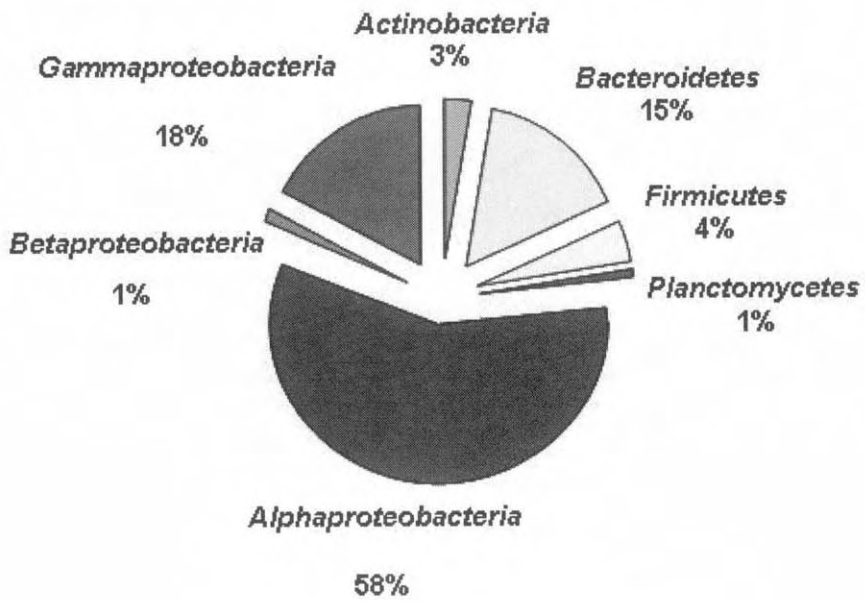


Fig. 3-3-5. Phylogenetic composition of bacterial isolates retrieved from marine polychaeta digestive tracts in Donggum tidal flat.

Table 3-3-7. Summary of comparative 16S rRNA gene analyses retrieved from polychaeta digestive tracts inhabiting Donggeum tidal flat. (Abbreviations: Alpha, Alphaproteobacteria; Beta, Betaproteobacteria; Gamma, Gammaproteobacteria; Bac, Bacteroidetes; Firm, Firmicutes; Act, Actinobacteria)

Isolates	The closest sequence of validly published species (Accession number)	Similarity (%)	Phylum/ Class
IMCC4201	<i>Roseicyclus mahoneyensis</i> DSM16097T (AJ315682)	95.97	Alpha
IMCC4202	<i>Donghicola eburneus</i> SW-277T (DQ667965)	96.65	Alpha
IMCC4203	<i>Arenibacter palladensis</i> LMG 21972T (AJ575643)	97.83	Bac
IMCC4204	<i>Maritimibacter alkaliphilus</i> HTCC2654T (DQ915443)	96.6	Alpha
IMCC4206	<i>Lutimonas vermicola</i> IMCC1616T (EF108218)	96.08	Bac
IMCC4207	<i>Oceanibulbus indolifex</i> HEL-45T (AJ550939)	97.79	Alpha
IMCC4209	<i>Citricella thiooxidans</i> CHLG 1T (AY639887)	96.31	Alpha
IMCC4210	<i>Erythrobacter citreus</i> RE35F/1T (AF118020)	95.76	Alpha
IMCC4211	<i>Pseudomonas veronii</i> CIP 104663T (AB021411)	98.91	Gamma
IMCC4212	<i>Microbulbifer maritimus</i> TF-17T (AY377986)	98.9	Gamma
IMCC4213	<i>Paracoccus alcaliphilus</i> JCM 7364T (D32238)	94.41	Alpha
IMCC4214	<i>Zeaxanthinibacter enoshimensis</i> TD-ZE3T (AB264057)	90.38	Bac
IMCC4215	<i>Marinimicrobium koreense</i> DSM 16974T (AY839869)	92.07	Gamma

Isolates	The closest sequence of validly published species (Accession number)	Similarity (%)	Phylum/ Class
IMCC4216	<i>Donghicola eburneus</i> SW-277T (DQ667965)	96.35	Alpha
IMCC4217	<i>Sphingopyxis flavimaris</i> KCTC 12232T (AY554010)	99.12	Alpha
IMCC4220	<i>Rhodovulum strictum</i> MB-G2T (D16419)	92.59	Alpha
IMCC4222	<i>Vibrio rotiferianus</i> LMG 21460T (AJ316187)	98.53	Gamma
IMCC4223	<i>Sphingopyxis baekryungensis</i> KCTC 12231T (AY608604)	99.41	Alpha
IMCC4225	<i>Pseudoruegeria aquimaris</i> SW-255T (DQ675021)	96.01	Alpha
IMCC4228	<i>Roseovarius tolerans</i> DSM 11457T (Y11551)	98.63	Alpha
IMCC4230	<i>Marinimicrobium koreense</i> DSM 16974T (AY839869)	90.83	Gamma
IMCC4233	<i>Sulfitobacter mediterraneus</i> DSM 12244T (Y17387)	97.07	Alpha
IMCC4236	<i>Marinobacter hydrocarbonoclasticus</i> ATCC 49840T (X67022)	90.82	Gamma
IMCC4240	<i>Sphingopyxis baekryungensis</i> KCTC 12231T (AY608604)	99.41	Alpha
IMCC4241	<i>Zeaxanthinibacter enoshimensis</i> TD-ZE3T (AB264057)	90.11	Bac
IMCC4242	<i>Marinobacter algicola</i> DSM 16394T (AY258110)	97.83	Gamma
IMCC4244	<i>Lutimonas vermicola</i> IMCC1616T (EF108218)	98.1	Bac
IMCC4246	<i>Sulfitobacter dubius</i> ATCC BAA-320T (AY180102)	96.96	Alpha
IMCC4249	<i>Mesorhizobium ciceri</i> UPM-Ca7T (U07934)	98.95	Alpha

Isolates	The closest sequence of validly published species (Accession number)	Similarity (%)	Phylum/ Class
IMCC4250	<i>Microbulbifer maritimus</i> TF-17T (AY377986)	99.17	Gamma
IMCC4251	<i>Roseicyclus mahoneyensis</i> DSM 16097T (AJ315682)	96.5	Alpha
IMCC4252	<i>Bacillus megaterium</i> IAM 13418T (D16273)	99.06	Firm
IMCC4253	<i>Bacillus indicus</i> Sd/3T (AJ583158)	99.33	Firm
IMCC4254	<i>Tenacibaculum litoreum</i> JCM 13039T (AY962294)	96.29	Bac
IMCC4255	<i>Arsenicococcus bolidensis</i> CCUG 47306T (AJ558133)	99.3	Act
IMCC4258	<i>Arsenicococcus bolidensis</i> CCUG 47306T (AJ558133)	99.71	Act
IMCC4259	<i>Marinobacterium stanieri</i> ATCC 27130T (AB021367)	99.58	Gamma
IMCC4260	<i>Erythrobacter vulgaris</i> 022 2-10T (AY706935)	99.7	Alpha
IMCC4264	<i>Subsaxibacter broadyi</i> CIP 108527T (AY693999)	95.68	Bac
IMCC4266	<i>Sporosarcina macmurdoensis</i> DSM 15428T (AJ514408)	97.71	Firm
IMCC4268	<i>Microbulbifer maritimus</i> TF-17T (AY377986)	99.72	Gamma
IMCC4269	<i>Tenacibaculum litoreum</i> JCM 13039T (AY962294)	94.05	Bac
IMCC4270	<i>Labrenzia aggregata</i> IAM 12614T (D88520)	93.33	Alpha
IMCC4271	<i>Vibrio brasiliensis</i> LMG 20546T (AJ316172)	99.86	Gamma
IMCC4272	<i>Microbulbifer maritimus</i> TF-17T (AY377986)	99.58	Gamma

Isolates	The closest sequence of validly published species (Accession number)	Similarity (%)	Phylum/ Class
IMCC4273	<i>Erythrobacter vulgaris</i> 022 2-10T (AY706935)	99.55	Alpha
IMCC4274	<i>Erythrobacter vulgaris</i> 022 2-10T (AY706935)	99.4	Alpha
IMCC4275	<i>Roseobacter litoralis</i> ATCC 49566T (X78312)	95.04	Alpha
IMCC4276	<i>Erythrobacter gaetbuli</i> KCTC 12227T (AY562220)	97.63	Alpha
IMCC4277	<i>Sulfitobacter mediterraneus</i> DSM 12244T (Y17387)	97.62	Alpha
IMCC4280	<i>Erythrobacter vulgaris</i> 022 2-10T (AY706935)	100	Alpha
IMCC4281	<i>Loktanella rosea</i> CIP 107851T (AY682199)	98.95	Alpha
IMCC4282	<i>Bizionia saleffrena</i> CIP 108534T (AY694005)	94.84	Bac
IMCC4283	<i>Sulfitobacter dubius</i> ATCC BAA-320T (AY180102)	97.2	Alpha
IMCC4284	<i>Rhodovulum strictum</i> MB-G2T (D16419)	92.35	Alpha
IMCC4285	<i>Roseobacter litoralis</i> ATCC 49566T (X78312)	96.73	Alpha
IMCC4288	<i>Vibrio campbellii</i> ATCC 25920T (X74692)	99.47	Gamma
IMCC4293	<i>Flaviramulus basaltis</i> H35T (DQ361033)	95.12	Bac
IMCC4297	<i>Ruegeria pomeroyi</i> DSS-3T (AF098491)	98.41	Alpha
IMCC4299	<i>Rhodovulum strictum</i> MB-G2T (D16419)	92.9	Alpha
IMCC4302	<i>Flaviramulus basaltis</i> H35T (DQ361033)	95.07	Bac

Isolates	The closest sequence of validly published species (Accession number)	Similarity (%)	Phylum/ Class
IMCC4303	<i>Roseobacter litoralis</i> ATCC 49566T (X78312)	97.47	Alpha
IMCC4305	<i>Roseobacter litoralis</i> ATCC 49566T (X78312)	97.01	Alpha
IMCC4306	<i>Microbulbifer elongatus</i> ATCC 10144T (AB021368)	89.18	Gamma
IMCC4307	<i>Altererythrobacter epoxidivorans</i> JCS350T (DQ304436)	95.56	Alpha
IMCC4308	<i>Sulfitobacter dubius</i> ATCC BAA-320T (AY180102)	97.03	Alpha
IMCC4309	<i>Erythrobacter citreus</i> RE35F/1T (AF118020)	99.41	Alpha
IMCC4311	<i>Roseobacter litoralis</i> ATCC 49566T (X78312)	97.33	Alpha
IMCC4312	<i>Bacillus thuringiensis</i> CIP 53.137T (D16281)	100	Firm
IMCC4313	<i>Thalassobius aestuarii</i> JC2049T (AY442178)	99.7	Alpha
IMCC4314	<i>Maribacter orientalis</i> KCTC 12967T (AY271624)	98.61	Bac
IMCC4315	<i>Oceanicola granulosus</i> HTCC2516T (AY424896)	94.86	Alpha
IMCC4316	<i>Altererythrobacter epoxidivorans</i> JCS350T (DQ304436)	97.01	Alpha
IMCC4318	<i>Roseibacterium elongatum</i> OCh 323T (AB061273)	94.66	Alpha
IMCC4320	<i>Flaviramulus basaltis</i> H35T (DQ361033)	95.06	Bac
IMCC4321	<i>Antarctobacter heliothermus</i> DSM 11440T (Y11552)	96.93	Alpha
IMCC4322	<i>Tenacibaculum litoreum</i> JCM 13039T (AY962294)	96.79	Bac

Isolates	The closest sequence of validly published species (Accession number)	Similarity (%)	Phylum/ Class
IMCC4324	<i>Oceanibulbus indolifex</i> HEL-45T (AJ550939)	96.18	Alpha
IMCC4327	<i>Flaviramulus basaltis</i> H35T (DQ361033)	95.31	Bac
IMCC4328	<i>Rheinheimera aquimaris</i> SW-353T (EF076757)	99.86	Gamma
IMCC4331	<i>Sulfitobacter dubius</i> ATCC BAA-320T (AY180102)	97.33	Alpha
IMCC4332	<i>Marinimicrobium koreense</i> DSM 16974T (AY839869)	90.23	Gamma
IMCC4333	<i>Methylophaga marina</i> DSM 5689T (X95459)	92.75	Gamma
IMCC4334	<i>Erythrobacter citreus</i> RE35F/1T (AF118020)	95.7	Alpha
IMCC4336	<i>Roseobacter denitrificans</i> ATCC 33942T (M59063)	96.52	Alpha
IMCC4338	<i>Gaetbulibacter saemankumensis</i> KCTC 12379T (AY883937)	99.45	Bac
IMCC4339	<i>Ralstonia pickettii</i> ATCC 27511T (AY741342)	93.47	Beta
IMCC4340	<i>Planctomyces maris</i> DSM 8797T (AJ231184)	96.32	Plancto
IMCC4341	<i>Albidovulum inexpectatum</i> FRR-10T (AF465833)	94.29	Alpha
IMCC4342	<i>Nocardioides kribbensis</i> KCTC 19038T (AY835924)	94.05	Act
IMCC4343	<i>Labrenzia aggregata</i> IAM 12614T (D88520)	99.11	Alpha
IMCC4344	<i>Sulfitobacter mediterraneus</i> DSM 12244T (Y17387)	95.75	Alpha
IMCC4345	<i>Jannaschia helgolandensis</i> DSM 14858T (AJ438157)	98.37	Alpha

Isolates	The closest sequence of validly published species (Accession number)	Similarity (%)	Phylum/ Class
IMCC4346	<i>Erythrobacter vulgaris</i> 022 2-10T (AY706935)	99.11	Alpha
IMCC4347	<i>Hoeflea alexandrii</i> DSM 16655T (AJ786600)	94.26	Alpha
IMCC4348	<i>Roseovarius tolerans</i> DSM 11457T (Y11551)	98.22	Alpha
IMCC4349	<i>Oceanicola batsensis</i> HTCC2597T (AY424898)	96.91	Alpha
IMCC4350	<i>Oceanibulbus indolifex</i> HEL-45T (AJ550939)	96.12	Alpha

라. 확보된 미생물의 분자계통학적 분석

1) 한강하구 미생물의 분자계통학적 특징

본 연구에서 확보한 16S rRNA 유전자를 ARB database에서 약 150,000개의 염기서열과 PT-Server를 이용, 비교하여 정렬한 다음 Jukes-Cantor distance를 사용하여 Neighbor-Joining 계통도를 작성하였다. 각 계통도는 우선 한강하구에서 확보한 전체균주의 분자계통을 Fig. 3-3-6에 제시하였으며 Fig. 3-3-7부터 Fig. 3-3-11까지는 각 문/강 별로 확보된 미생물의 계통도를 표시하였다.

한강하구에서 분리된 *Alphaproteobacteria*는 모두 한강하구의 강물에서 분리된 미생물이었다. *Alphaproteobacteria*에 속하는 총 11개의 염기서열을 분석한 결과, 97% 미만의 16S rRNA 유전자 유사도를 기준하여 신종의 유무를 판정하였을 때, 신종에 해당하는 미생물이 총 6 균주로 나타났다(Fig. 3-3-7). 전반적으로 이 지역이 기수역임을 감안할 지라도 해양환경에서 주로 나타나는 *Roseobacter* clade, *Erythrobacter* clade는 검출되지 않았으며 육상기원이라 판단되는 *Sphingomonas* 속 및 *Hyphomicrobium* 속 그리고 *Rhodobacter* 속에 속하는 미생물이 배양, 분리되었다. 특히, IMCC6499와 IMCC6506는 적어도 *Alphaproteobacteria*의 새로운 속에 속하는 미생물임을 확인할 수가 있었다.

*Gammaproteobacteria*에서는 하구서식 갯지렁이에서 분리된 미생물 중에는 신종이 검출되지 않았으며, 모든 미생물은 *Enterobacteraceae*와 *Aeromonas* 그리고 *Shewanella*에 속하였다(Fig. 3-3-8). 그러나 갯지렁이에서 분리된 미생물과 하구의 강물에서 배양된 미생물의 종조성은 확연하게 달랐으며, 하구의 강물에서 배양된 미생물은 *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas* 속 등에 속하였다. 이종에서 *Acientobacter*속에 속하는 미생물 2 주는 신종에 해당하는 미생물이었다.

*Betaproteobacteria*에 속하는 미생물은 모두 한강하구 강물에서 분리된 미생물이었으며, IMCC6418, IMCC6419, IMCC6525, IMCC6539는 *Betaproteobacteria* 의 새로운 속에 해당하는 미생물이었다. 전반적으로

Curvibacter, *Acidovorax*, *Hydrogenophaga*와 관련있는 미생물들이 검출되었으며 특히, IMCC6406은 Uncultured bacterium과 연관이 깊어서 새로운 속으로 분류가 되었다(Fig. 3-3-9).

*Bacteroidetes*에 해당하는 미생물 중 많은 수는 신종 혹은 신속의 계통학적 위치를 나타내었다. 특히 *Flexibacter* 속과 단일가지로 형성된 11개의 분리 미생물은 *Flavobacteria*에 속하는 새로운 속으로서 분류가 될 수가 있었다(Fig. 3-3-10). 전반적으로 *Bacteroidetes*에 해당하는 미생물은 크게 네 개의 속으로 분자분류가 되었으며 이 중 2개의 속은 *Bacteroidetes*의 새로운 속에 해당하였다.

*Firmicutes*와 *Actinobacteria*에 해당하는 미생물의 계통도는 Fig. 3-3-11에 제시되어 있으며, 이들 중 갯지렁이에서 분리된 IMCC6337는 *Lactococcus* 속에 속하는 신종으로 분류가 되었으며 *Actinobacteria*에 속하는 *Nocardioides* 속에 해당하는 신종 또한 확보할 수가 있었다.

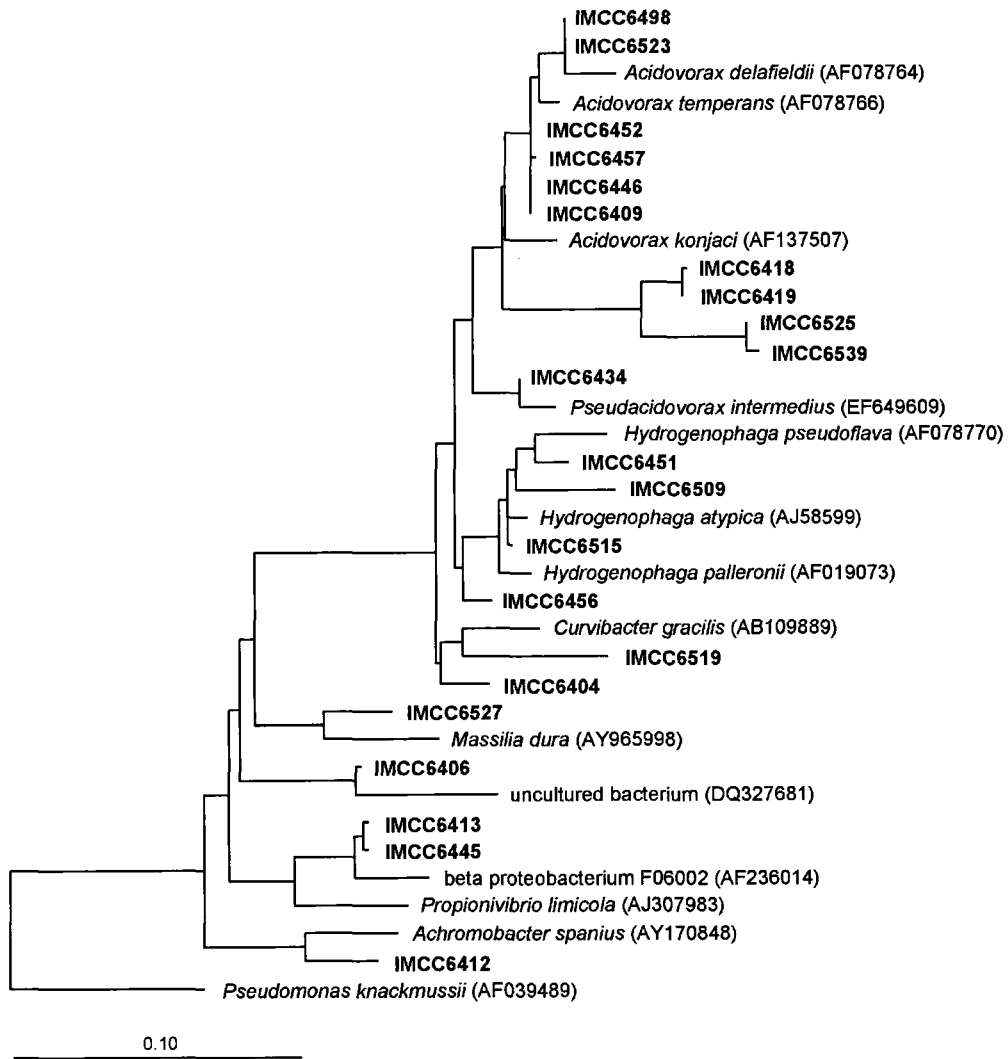


Fig. 3-3-8. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from Han river estuary and related bacteria in the *Betaproteobacteria*.

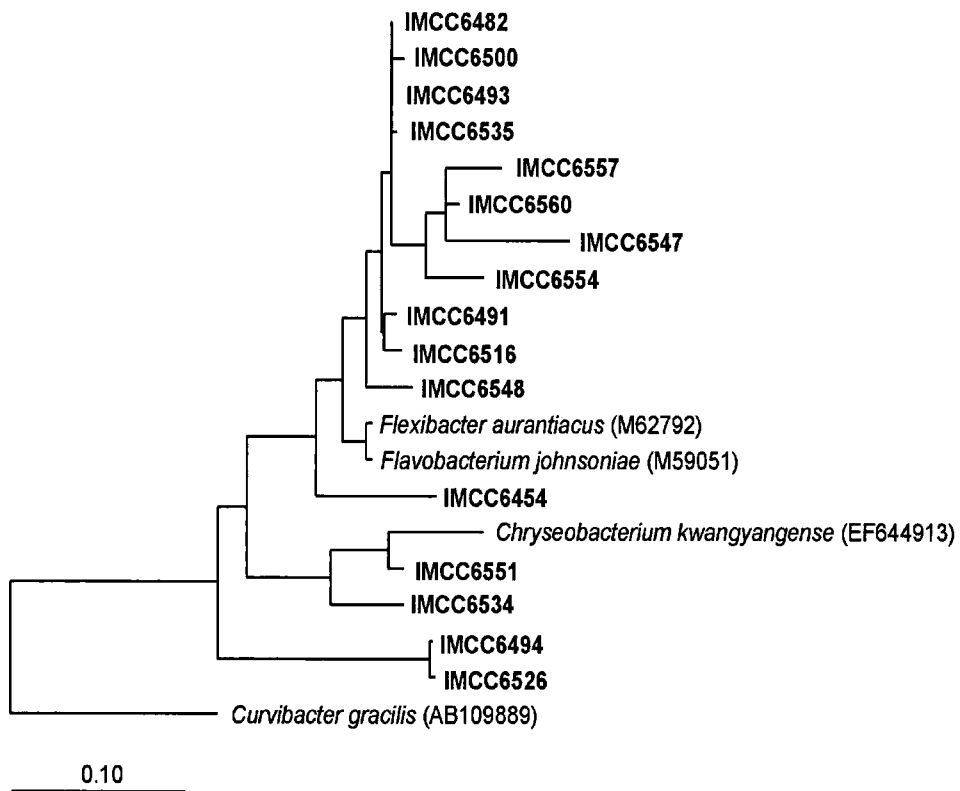


Fig. 3-3-9. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from Han river estuary and related bacteria in the *Bacteroidetes*.

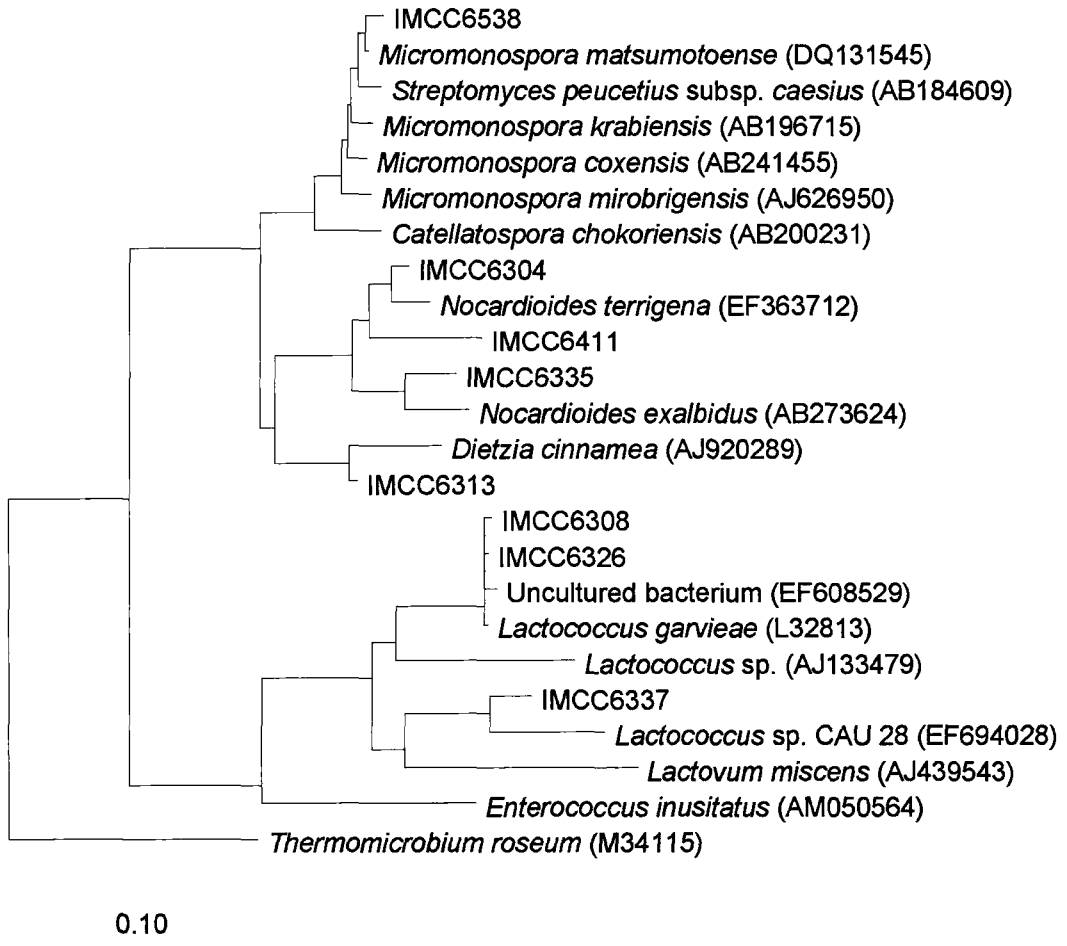


Fig. 3-3-10. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from Han river estuary and related bacteria in the Firmicutes and Actinobacteria.

2) 동검도 갯벌의 다모류 소화관에서 분리한 미생물의 분자계통학적 분류

동검도 갯벌의 다모류 소화관에서 분리한 미생물의 16S rRNA 유전자를 ARB database에서 약 150,000개의 염기서열과 PT-Server를 이용, 비교하여 정렬한 다음 Jukes-Cantor distance를 사용하여 Neighbor-Joining 계통도를 작성하였다. 각 계통도는 우선 한강하구에서 확보한 전체균주의 분자계통을 Fig. 3-3-12에 제시하였으며 Fig. 3-3-13부터 Fig. 3-3-161까지는 각 문/강 별로 확보된 미생물의 계통도를 표시하였다. 갯지렁이로부터 분리된 미생물의 분류군중 가장 많은 수를 차지하는 것으로 분석이 된 *Alphaproteobacteria*의 그룹은 주요하게 통성 혐기성인 *Rhodobacteriaceae* 그룹 내의 *Roseobacter*, *Rhodoyulum* 그리고 H₂S를 산화시킬 수 있는 능력이 있는 *Sulfitobacter* 속과 유연관계를 보였고, *Erythrobacter* 속으로 나타나는데 이들은 해양환경에서 주로 볼 수 있는 분류군에 속한다. 전체 균주 중 15%를 차지하는 *Bacteroidetes* 그룹은 해양에서 고분자 유기물을 분해하는 능력을 지닌 것으로 알려져 있는데, 분리된 균주 중 주요한 속으로는 *Flavobacteria* 강에 속하는 *Bizionia*, *Flaviramulus*, *Subsaxibacter* 그리고 *Zeaxanthinibacter* 등이 있으며 이들 중 10여 균주가 신종 및 신속으로 분석이 되었다. *Gammaproteobacteria*는 분리균 중 14%를 차지하였으며, 이들은 해양 퇴적물에서 흔하게 볼 수 있는 그룹으로 생리적으로 다양한 특성을 보이는 소그룹으로 이루어져 있다. 주요하게 나타난 속으로는 *Marinomicrobium*, *Marinobacter*, *Microbulbifer*, *Pseudomonas* 그리고 *Vibrio* 속이 있으며 *Firmicutes* 그룹은 17%의 분리 균주 점유율을 보였는데, 이들은 Gram-positive cell wall 구조를 가지고 있으며 다른 생물의 장 속에서 많이 분류되어지는 그룹이다. 분리된 균주들의 주요한 속은 *Bacillus*, *paenibacillus* 그리고 *sporosarcina*가 있으며 쉽게 해양 및 다른 환경에서 분리되어 동정됨에 따라 신종 및 신속이 확인되는 확률이 다른 그룹에 비해 낮다. 그 외에 소수로 분리가 된 그룹은 *Actinobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Planctomycetacia* 그리고 *Verrucomicrobia* 등이 있는데 이중 *Planctomycetacia* 와 *Verrucomicrobia* 는 단 1개의 균주만이 분리 되었다.

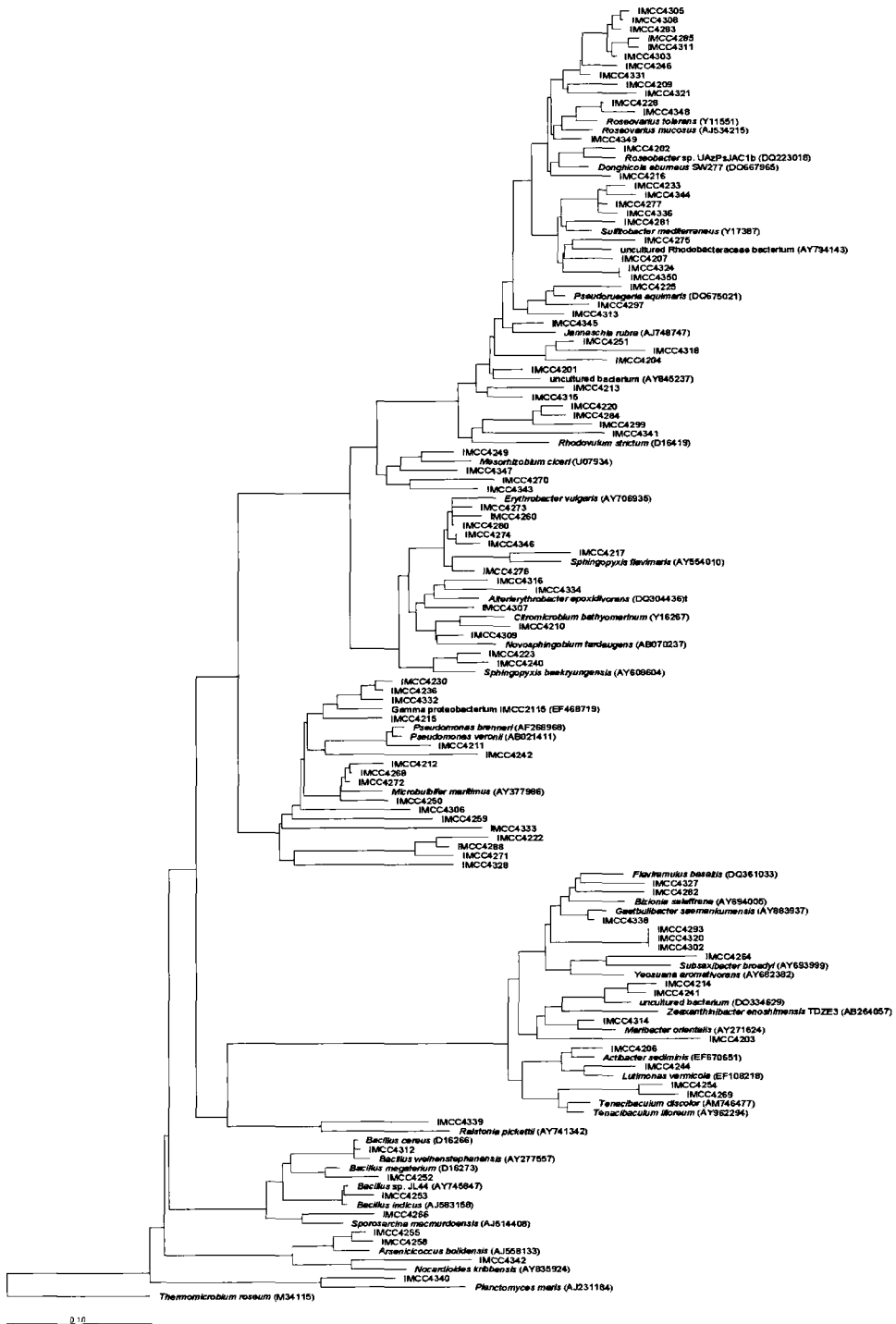


Fig. 3-3-11. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from polychaeta digestive tracts inhabiting Donggum tidal flat sediment, in the domain *Bacteria*.

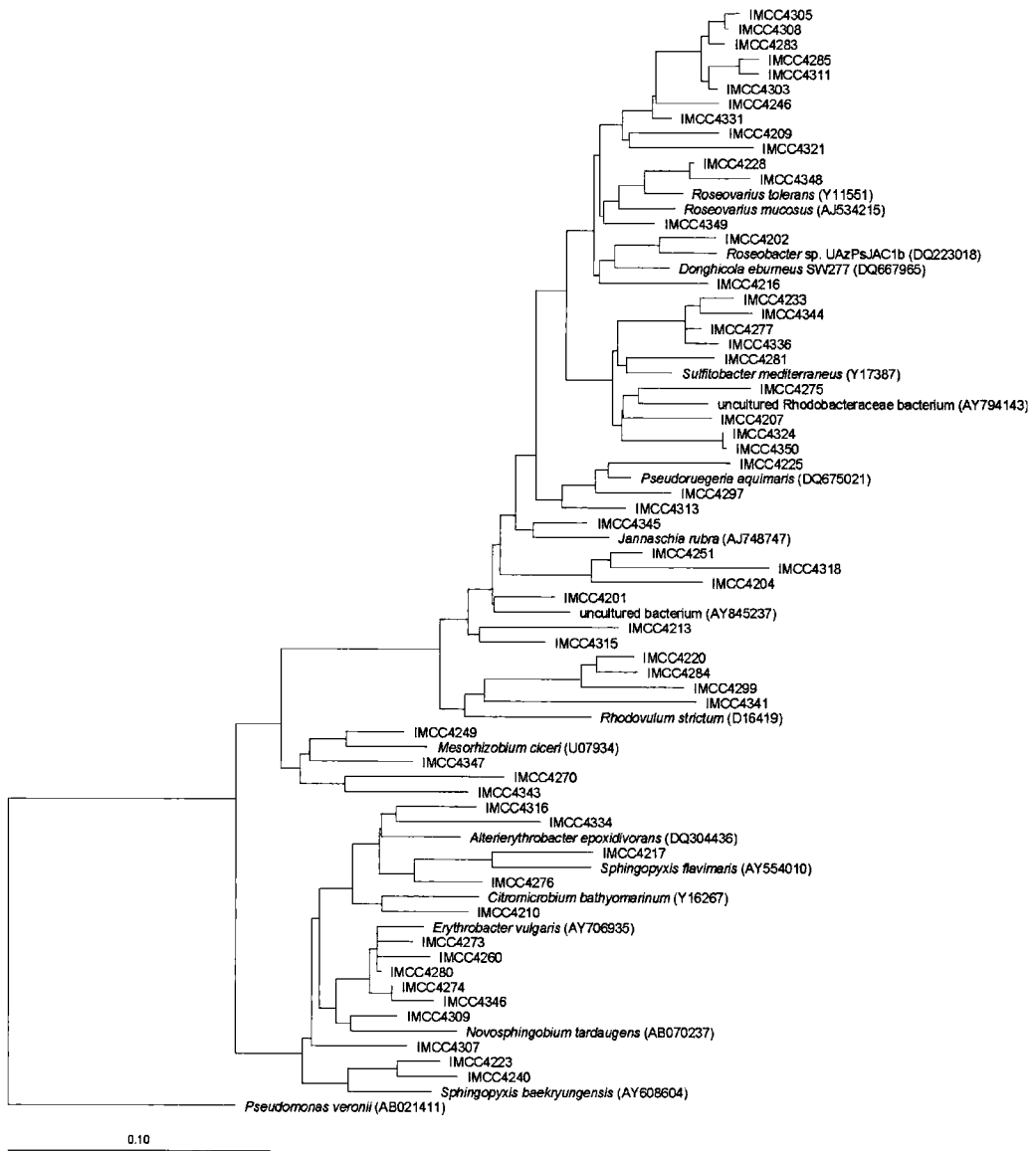


Fig. 3-3-12. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from polychaeta digestive tracts inhabiting Donggum tidal flat sediment, in the *Alphaproteobacteria*.

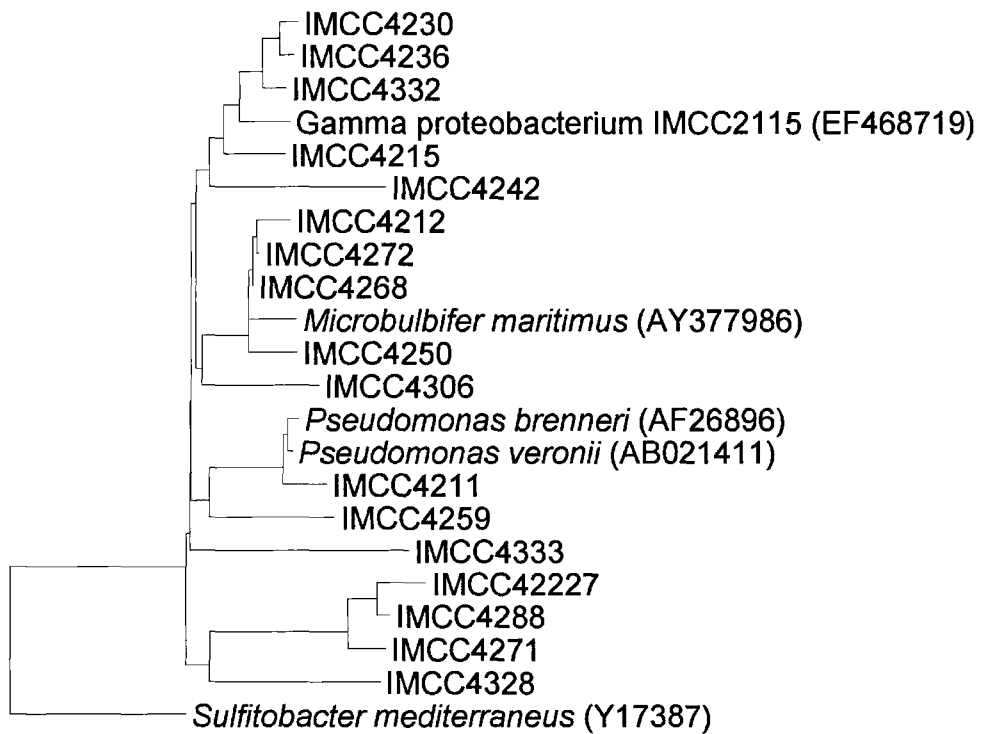
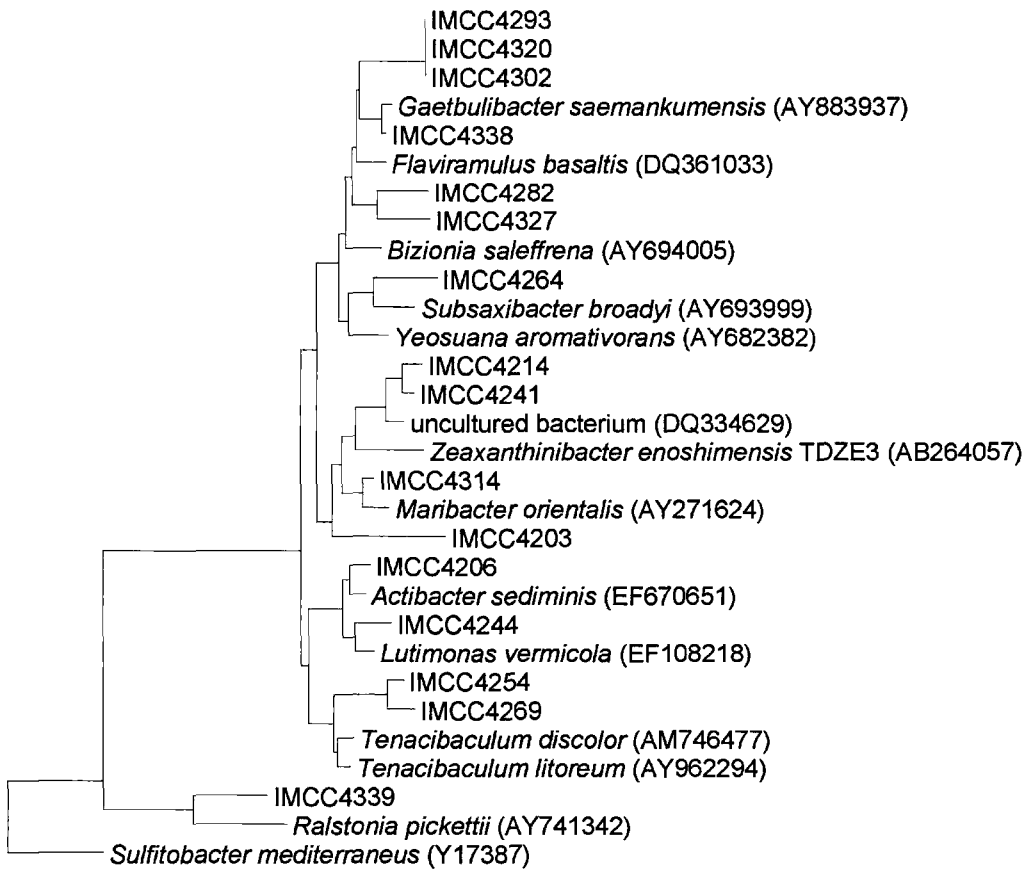
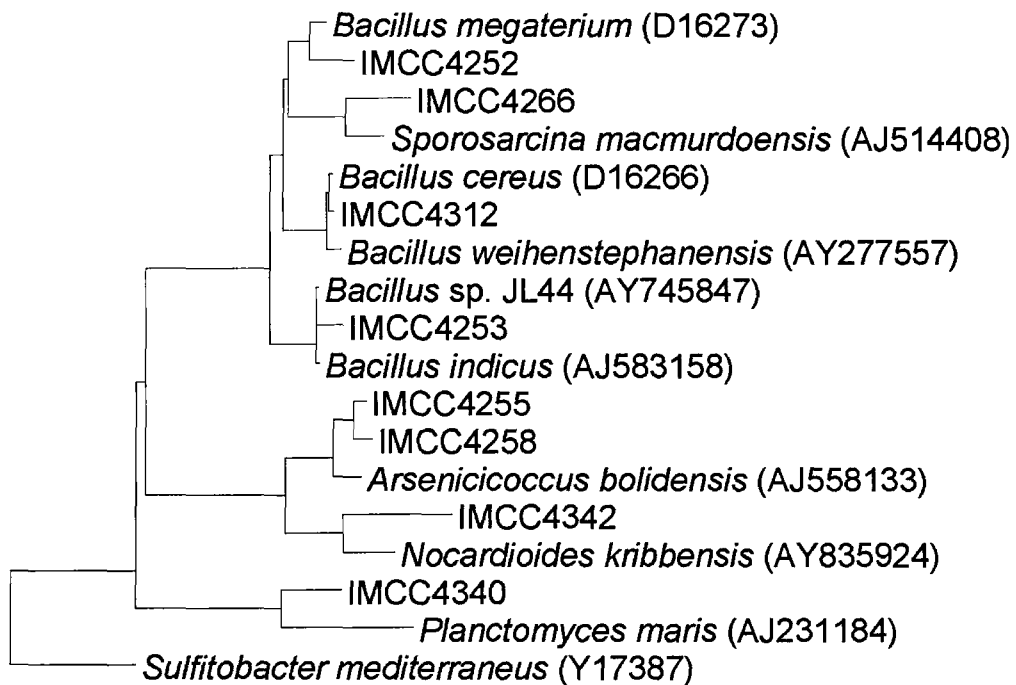


Fig. 3-3-13. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from polychaeta digestive tracts inhabiting Donggum tidal flat sediment, in the *Gammaproteobacteria*.



0.10

Fig. 3-3-14. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from polychaeta digestive tracts inhabiting Donggum tidal flat sediment, in the *Bacteroidetes*.



0.10

Fig. 3-3-15. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the bacterial isolates from polychaeta digestive tracts inhabiting Donggum tidal flat sediment, in the phyla Firmicutes, Actinobacteria, and Planctomycetes.

3) 한강 하구에서 확보한 미생물 신종의 계통학적 특성

현대분류학에서 가장 핵심이 되고 있는 분류의 key는 16S rRNA 유전자의 염기서열임으로 모든 분류대상 미생물을 대상으로 계통학적 분석을 수행하였다. 이 보고서에서는 한강하구에서 확보한 미생물의 모든 신종의 16S rRNA 유전자 분석을 수행하여 Fig. 3-3-17부터 Fig. 3-3-28까지 제시하고 있다. 이들 균주들에 대한 계통분석을 포함한 다상분류의 데이터는 표준균주와의 비교를 통해 연구과제 종료 후 이후 논문으로 발간될 계획이다.

계통학적 분석결과 IMCC6337은 *Firmicutes*에 속하는 *Lactococcus* 속의 새로운 종으로 판정이 되었으며(Fig. 3-3-17), IMCC6419 및 IMCC6519는 *Betaproteobacteria*에 속하는 새로운 속으로 판정이 되었다(Fig. 3-3-18). 한편 *Nocardioides* 속하는 새로운 종인 IMCC6411을 확인하였고(Fig. 3-3-19), *Pigmentophaga*와 *Bordetella*와 유연관계를 보이는 새로운 속에 속하는 IMCC6412를 확보하였다(Fig. 3-3-20). 유사하게 IMCC6413, IMCC6438, IMCC6494, IMCC6499, IMCC6506, IMCC6527, IMCC6545, IMCC6532, IMCC6438, IMCC6546, IMCC6560의 미생물이 모두 신종 또는 신속으로 판명되어 다상분류를 수행중이다.

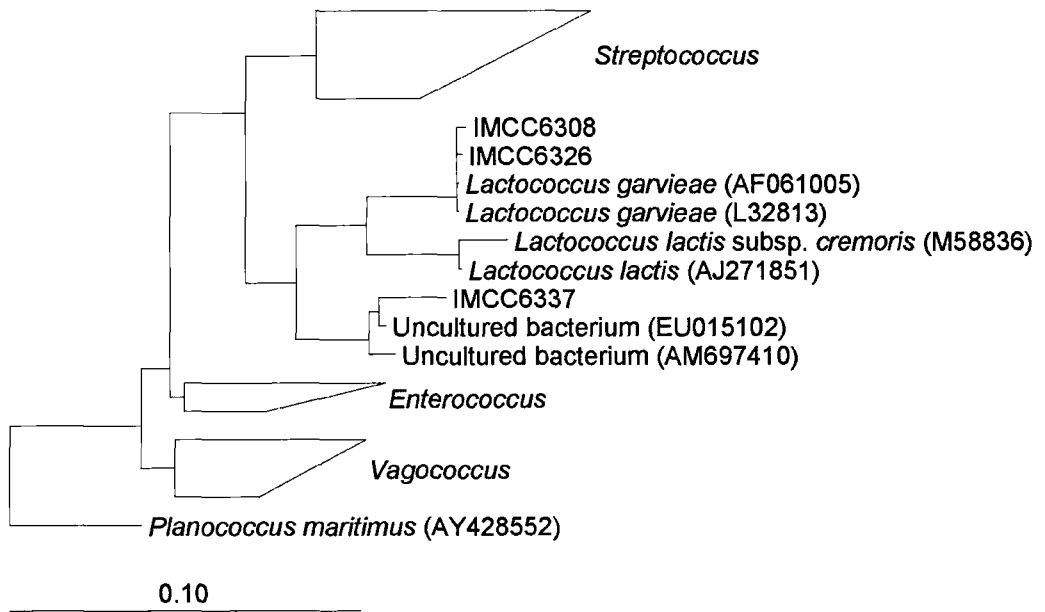


Fig. 3-3-16. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6337 and related bacteria.

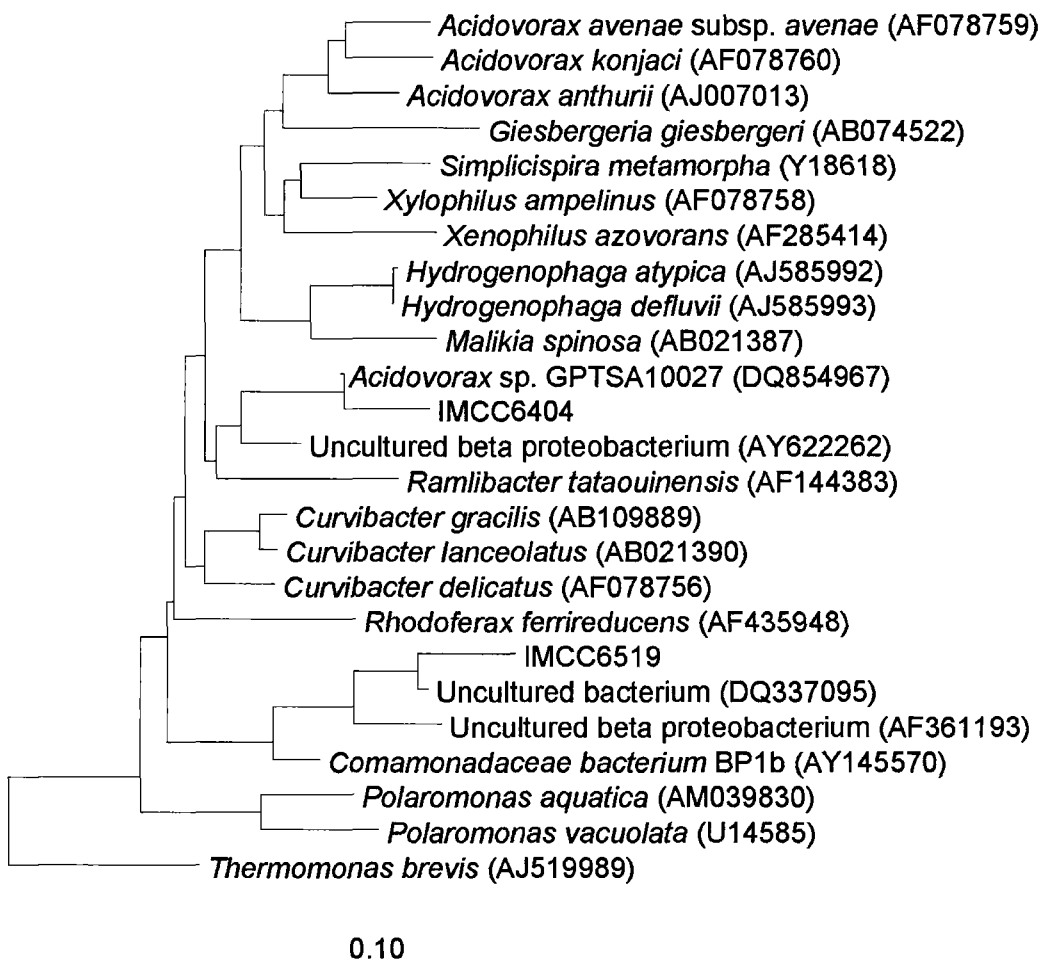


Fig. 3-3-17. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6404 and IMCC6519 and related bacteria.

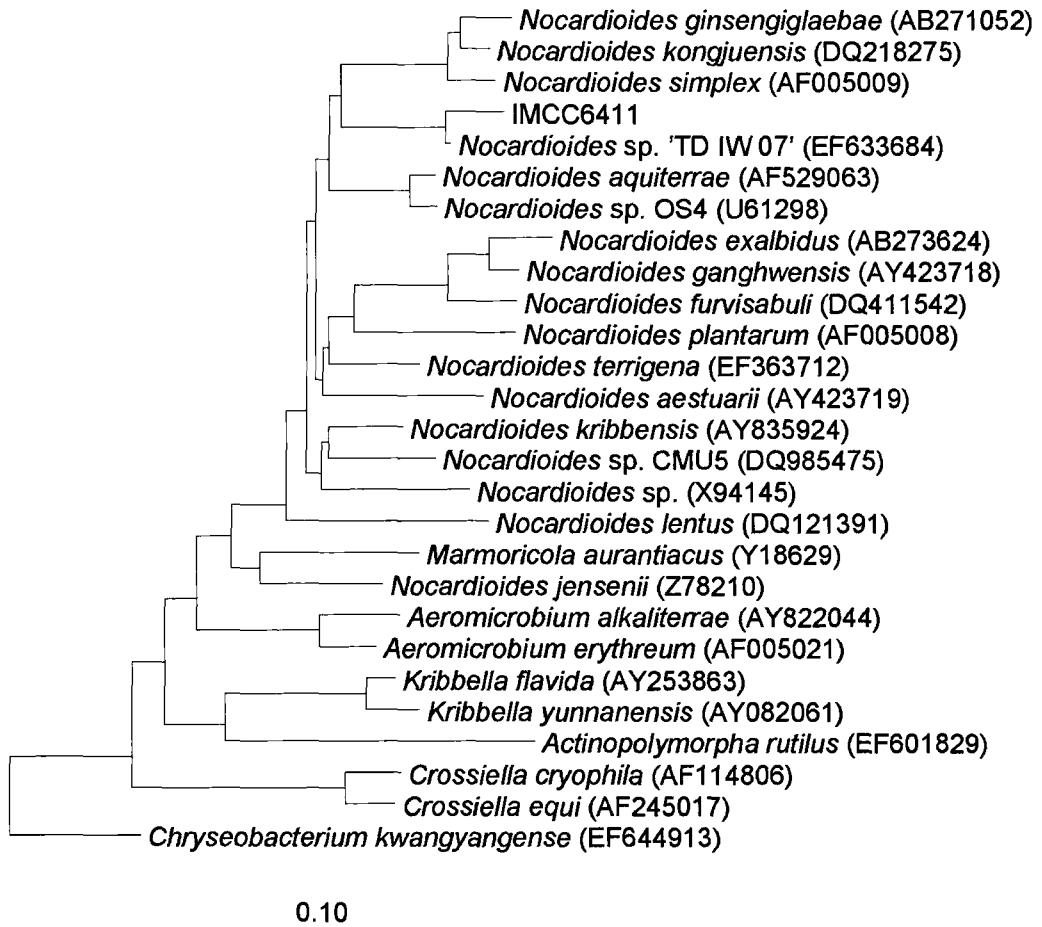


Fig. 3-3-18. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6411 and related bacteria.

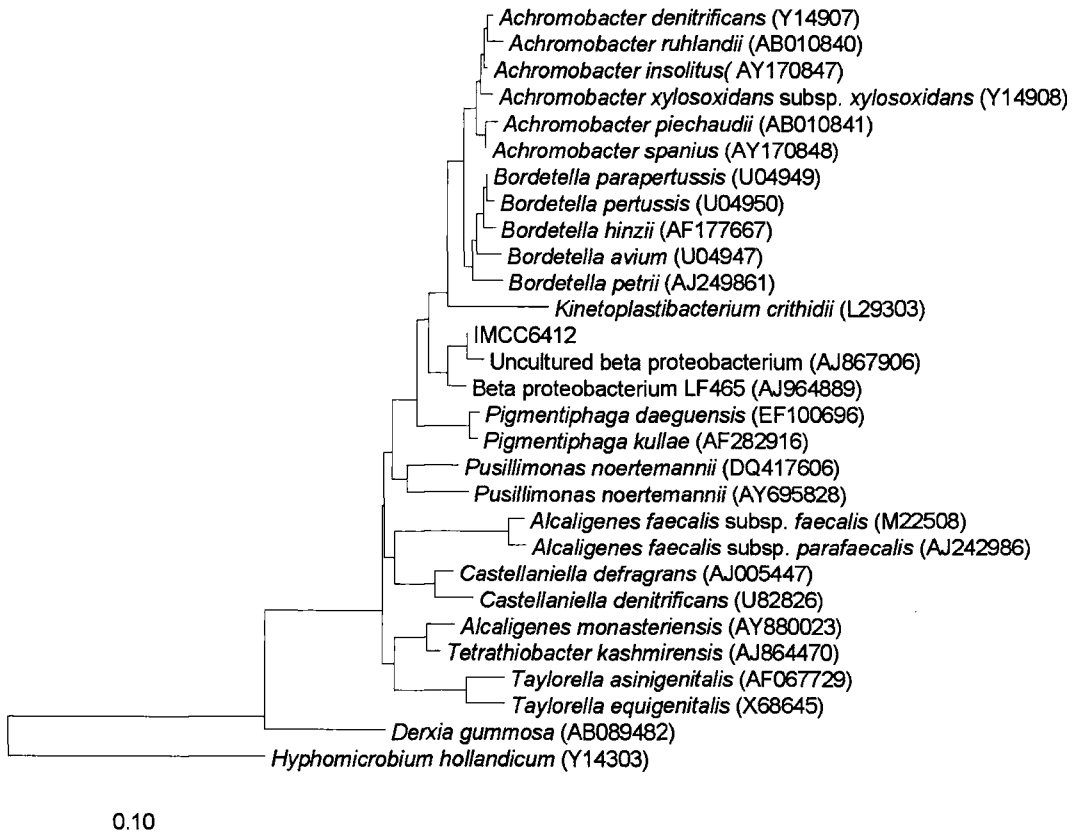


Fig. 3-3-19. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6412 and related bacteria.

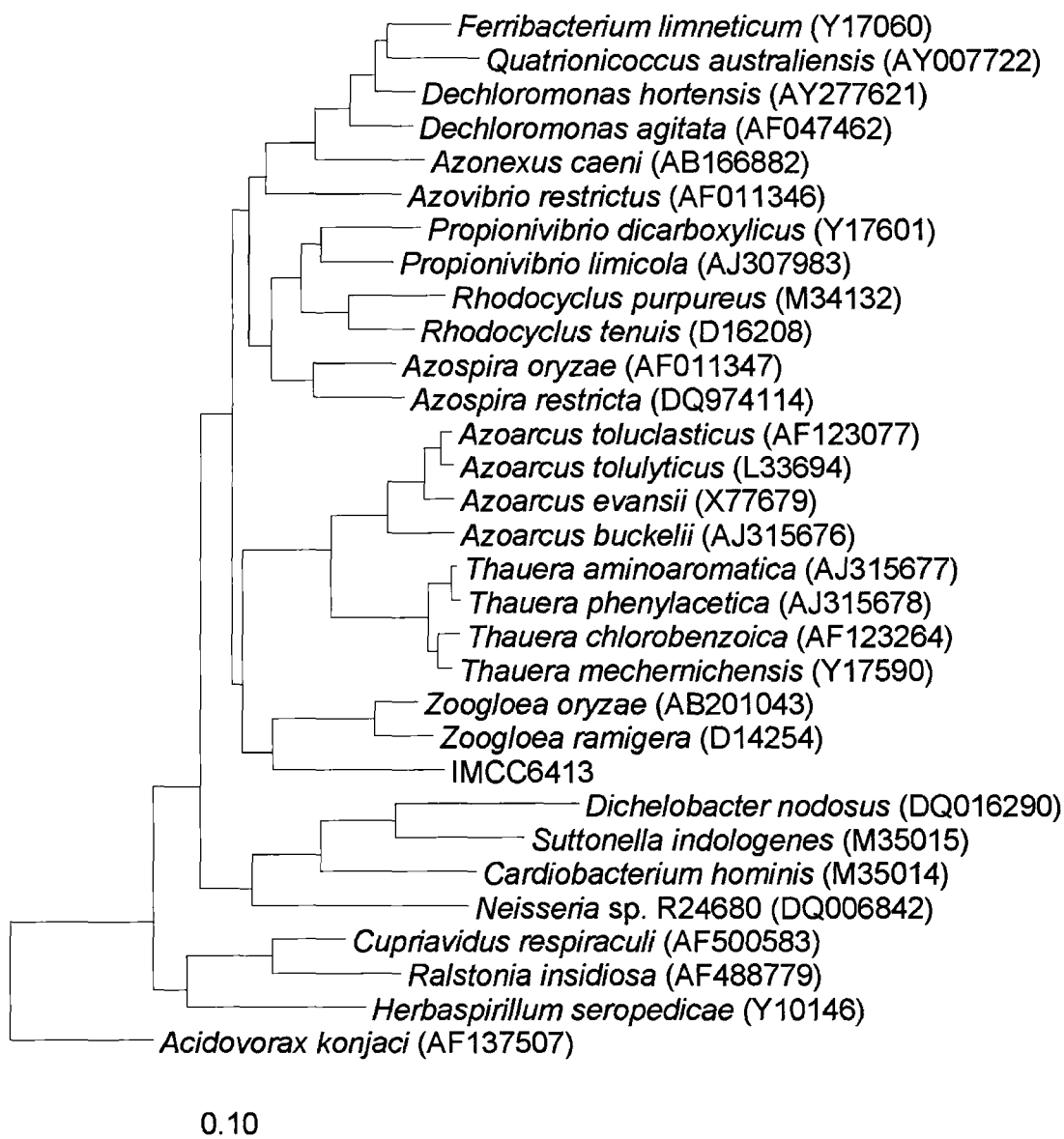


Fig. 3-3-20. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6413 and related bacteria.

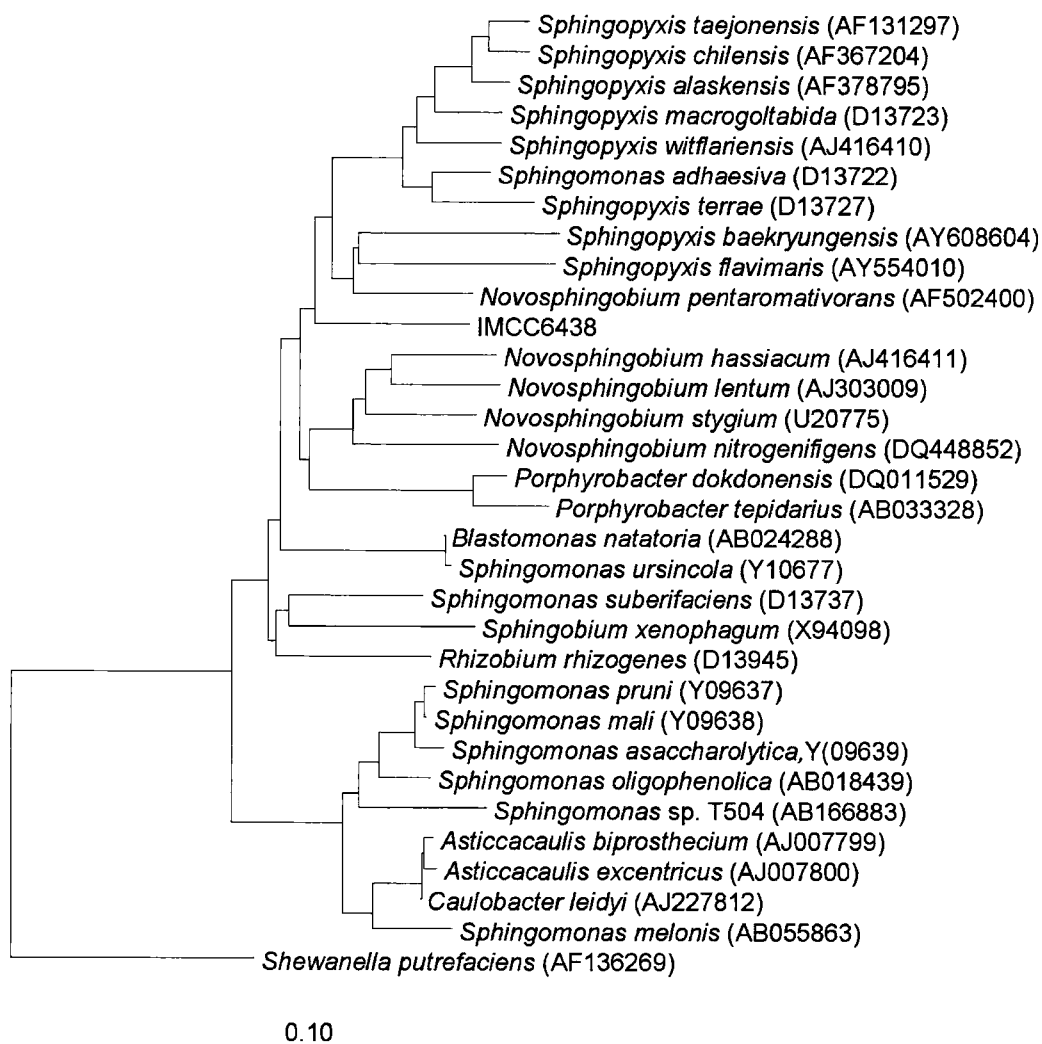
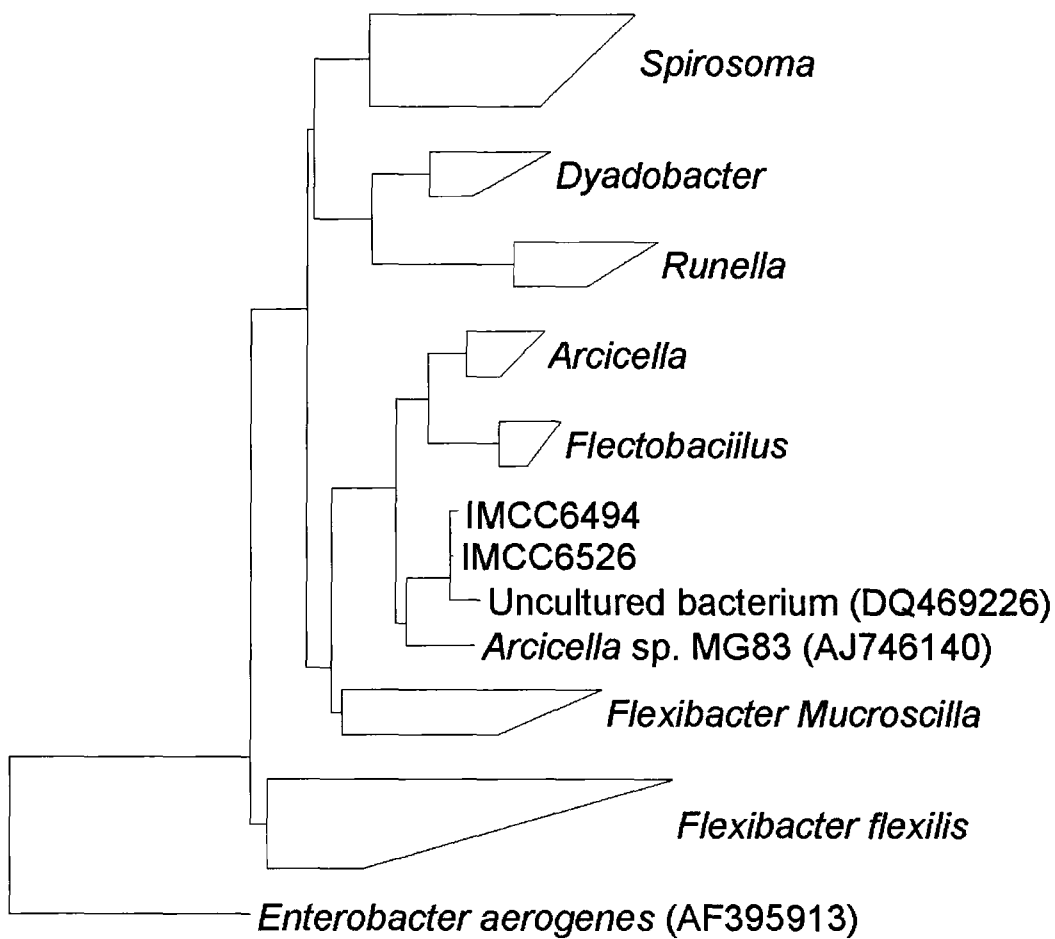


Fig. 3-3-21. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6438 and related bacteria.



0.10

Fig. 3-3-22. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6494, IMCC6526 and related bacteria.

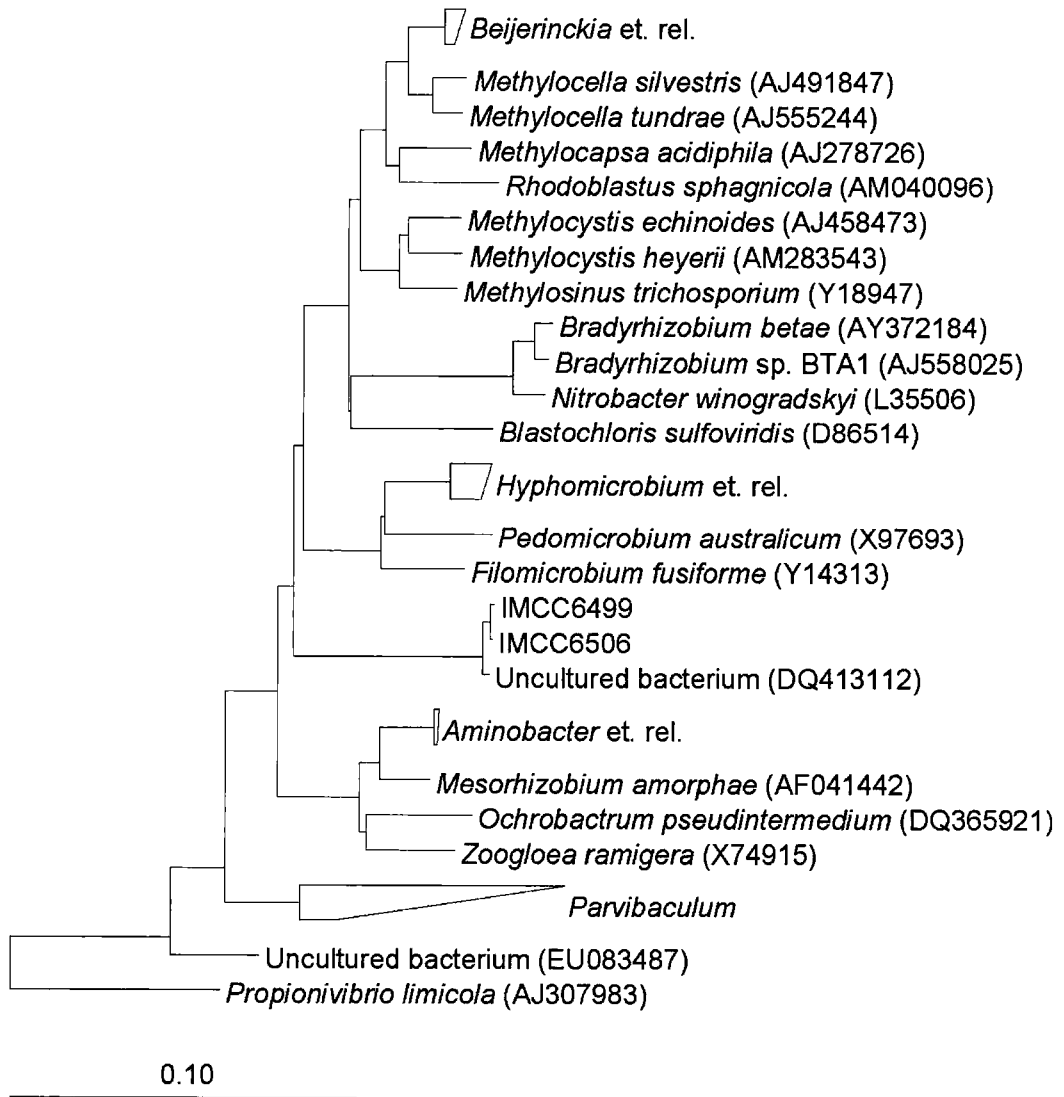


Fig. 3-3-23. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6499, IMCC6506 and related bacteria.

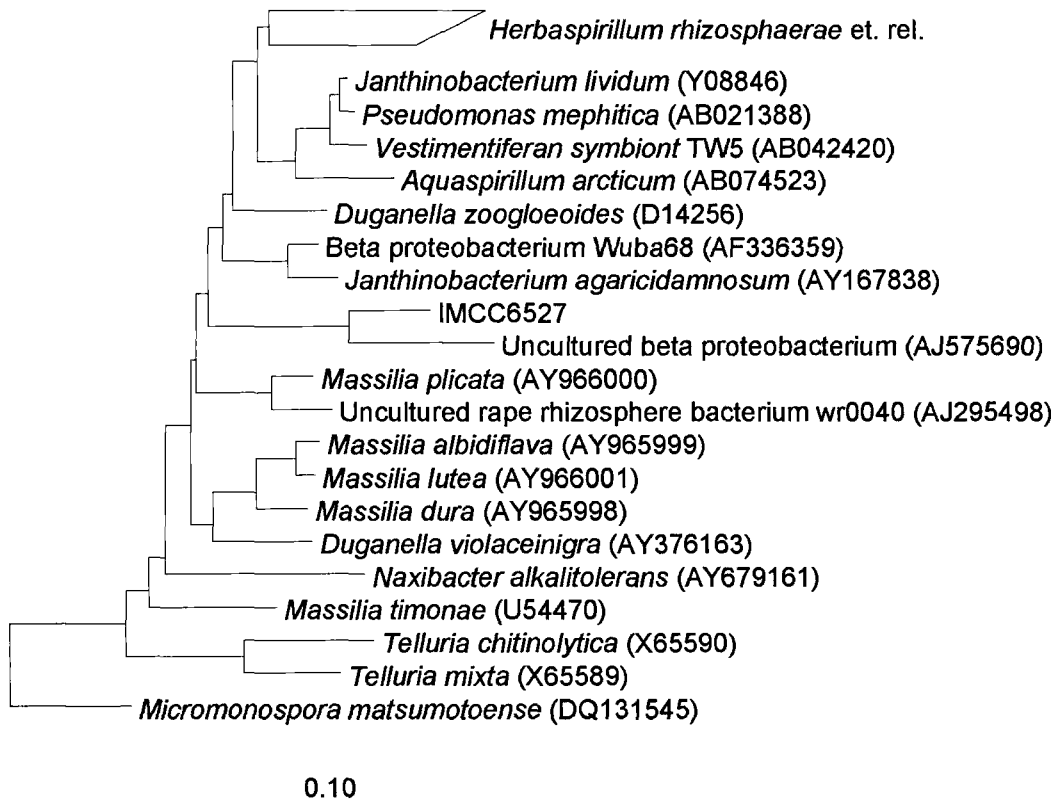


Fig. 3-3-24. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6527 and related bacteria.

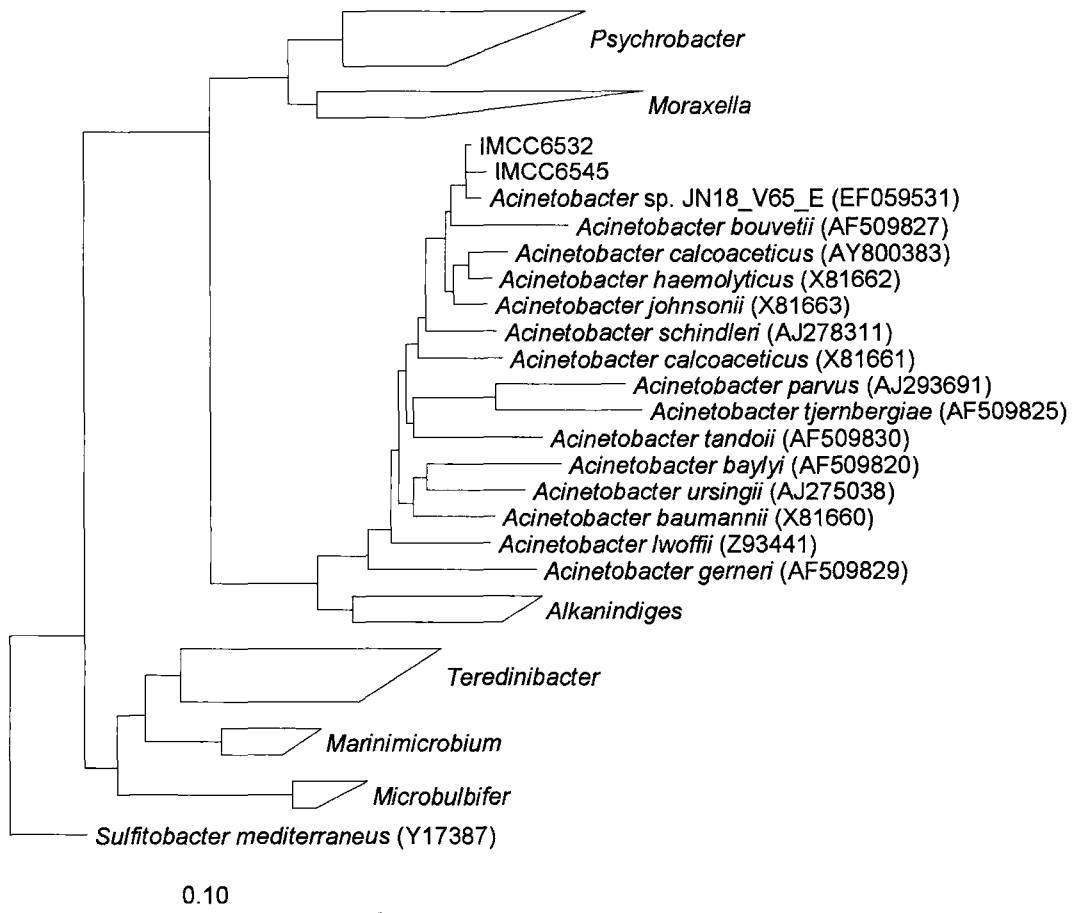


Fig. 3-3-25. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6545, IMCC6532, and related bacteria.

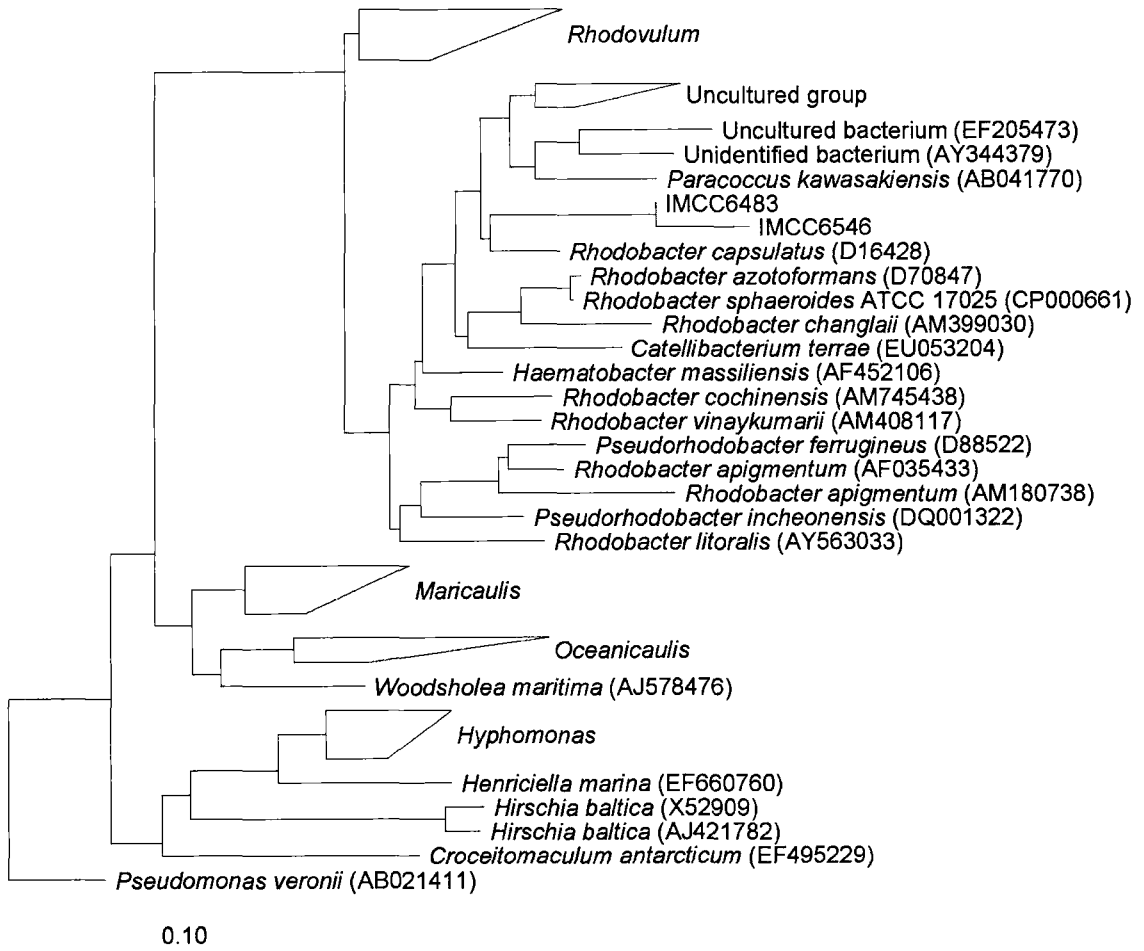


Fig. 3-3-26. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between strain IMCC6483, IMCC6546, and related bacteria.

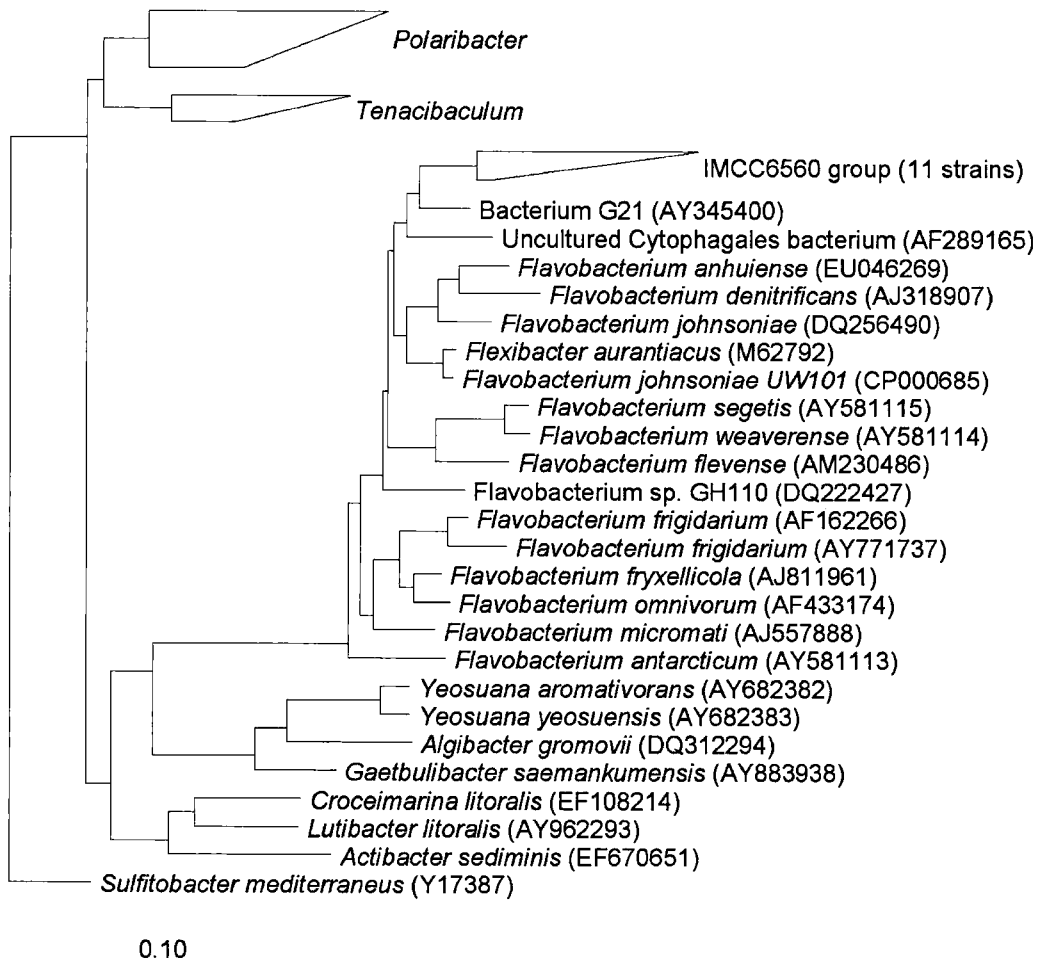


Fig. 3-3-27. Neighbor-joining phylogenetic tree showing relationships between the clade of IMCC6560 and related bacteria.

제 4 장 연구개발 목표달성도

본 연구팀은 1년 동안의 연구를 통하여 아래 표에서 정리하였듯이 세부 연구목표를 달성하였다.

세부연구목표 (연구계획서상에 기술된 연구목표)	달성내용
1) 한강 하구역의 염분구배에 따른 대형무척추동물 분포 파악	<ul style="list-style-type: none"> • 한강하구역 3곳의 습지(장항습지, 산남습지, 시암습지)에서 대형무척추동물의 종조성 및 분포를 파악하였음
2) 매년 봄철에 한강에 출현하는 기수산 갯지렁이의 종류 파악	<ul style="list-style-type: none"> • 강갯지렁이류(<i>Hediste diadroma</i>), 털보백금갯지렁이(<i>Nephtys ciliata</i>), 대나무갯지렁이류(<i>Maldanidae</i> sp.) 등 환형동물 3종이 한강하구에 서식하고 있음을 확인 • 강어귀참갯지렁이류 중 미기록종 <i>Hediste diadroma</i> 를 국내 최초로 보고하였음 • 한강 하구역에서 도약옆새우류와 털보백금갯지렁이가 서식함을 처음으로 보고하였음
3) 주요대형무척추동물과 공생하는 난배양 유용공생미생물 배양	<ul style="list-style-type: none"> • 한강하구의 강갯지렁이 소화관에서 총 84주, 한강하구 강물에서 160주, 동검도 갯벌의 흰이빨참갯지렁이에서 총 150주 등 총 394주의 미생물을 순수 배양하였음
4) 난배양 공생미생물로부터 새로운 유전자원 확보 및 신종의 등록	<ul style="list-style-type: none"> • LINUX기반 ARB DB의 확립 및 미세콜로니의 염기서열을 이용한 신종후보군을 확보 • 총 394주의 순수배양 미생물 중 23개의 신종 및 신속에 해당하는 미생물 70주 확보 및 다상분류 진행 중

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 1년 과제의 연구개발결과는 다음과 같은 과학적, 정책적 측면에서 중요한 자료 및 과학적 내용으로 활용될 수 있을 것이라 판단된다.

- 환경변화에 따른 한강 생태계 관리를 위한 생물다양성 감시대책 활용
- 한강 하구역의 서식처 mapping으로 한강습지관리에 정책자료로 활용
- 저서생물상 파악으로 홍수 및 가뭄으로 인한 생물상 예측 용이
- 확보된 70여주의 신규 미생물의 다상분류를 통한 신종의 국제적인 등록에 활용
- 확보된 약 400여주의 미생물은 신규 유용유전자원 발굴의 원천재료로서 적극적인 활용이 가능
- 한강 하구역 생물다양성 조사로 산업적 유용한 생물 유무 파악이 가능
- 철새의 먹이가 되는 대형무척추동물의 시공간 분포 정보 제공으로 철새 도래 및 서식 관련 예측 가능에 대한 기초적인 정보제공
- 신규 유용미생물 유전자원의 특허화 및 산업화생명공학에의 적용

제 6 장 참고문헌

- 건설교통부 (2005). 한강하류부 하상변동 조사 연구보고서.330pp.
- 김포시 (2005). 한강준설사업 사전환경성검토서. 406pp.
- 김훈수 (1973). 한국동식물도감. 제14권 동물편(집계, 계류), 문교부. 694pp.
- 김훈수, 윤성명, 신만균 (1987). 서울 지역 한강하류의 저서동물. 한강생태계 조사연구보고서. pp. 213-264.
- 김훈수, 최병래 (1982) 강화도 동부수도의 갑각십각류의 종의 구성 및 출현빈도의 연간변화. 한국자연보존협회. pp. 313-323.
- 문화재청 (2003). 천연기념물백서.
- 박건춘 (2002). 서해안 갯지렁이로부터 신기능성 단백질 분해효소의 정제 및 특성 연구. 석사학위 논문. 인하대학교.
- 서울대학교 자연과학 종합연구소 (1981). 한강수계의 생태학적 조사연구보고서. 289pp.
- 서울특별시 (1990). 한강생태계 조사연구 보고서. 586pp
- 유종생 (1969). 한강산 담수패류의 분포 및 현존량. 서울사대부고 연간조사서, 12: 1-9.
- 한국환경정책·평가연구원 (2004). 지속가능한 하구역 관리방안 I. 648pp.
- 해양수산부 (2003). 갯벌 생태계조사 및 지속 가능한 이용방안 연구. p20-24.
- 해양수산부 (2005). 우리나라 갯벌. p12.
- 현정호, 목진숙, 조혜연, 조병철 & 최중기 (2004). 하계 강화도 갯벌의 혐기성 유기물 분해능 및 황산염 황원력. 한국습지학회 6, 75-90.
- Bernardet, J. F., Nakagawa, Y. & Holmes, B. (2002). Proposed minimal standards for describing new taxa of the family *Flavobacteriaceae* and emended description of the family. *Int J Syst Evol Microbiol* 52, 1049-1070.
- Bowman, J. P. & McCuaig, R. D. (2003). Biodiversity, community structural shifts, and biogeography of prokaryotes within Antarctic continental

- shelf sediment. *Appl Environ Microbiol* 69, 2463-2483.
- Brosius, J., Ullrich, A., Raker, M. A., Gray, A., Dull, T. J., Gutell, R. R. & Noller, H. F. (1981). Construction and fine mapping of recombinant plasmids containing the *rrnB* ribosomal RNA operon of *E. coli*. *Plasmid* 6, 112-118.
- Capone, D. G. & Kiene, R. P. (1988). Comparison of microbial dynamics in marine and freshwater sediments. *Limnol Oceanogr* 33, 725-749.
- Cho, J. C. & Giovannoni, S. J. (2004). Cultivation and growth characteristics of a diverse group of oligotrophic marine *Gammaproteobacteria*. *Appl Environ Microbiol* 70, 432-440.
- Choi J.K., C. H. K., Y.C. Park, B.H. Choi, B.S. Park and K.N. Han. (1997). A nature scenery and an ecosystem of Incheon coastal Island. The present situation and an conservation. *Ocean Science & Technology Institute, Inha University*, 1-69.
- Choi, D. H. & Cho, B. C. (2006). *Lutibacter litoralis* gen. nov., sp. nov., a marine bacterium of the family *Flavobacteriaceae* isolated from tidal flat sediment. *Int J Syst Evol Microbiol* 56, 771-776.
- Choi, D. H., Kim, Y. G., Hwang, C. Y., Yi, H., Chun, J. & Cho, B. C. (2006). *Tenacibaculum litoreum* sp. nov., isolated from tidal flat sediment. *Int J Syst Evol Microbiol* 56, 635-640.
- Chun, J., Lee, J. H., Jung, Y., Kim, M., Kim, S., Kim, B. K. & Lim, Y. W. (2007). EzTaxon: a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences. *Int J Syst Evol Microbiol* 57, 2259-2261.
- Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *J Mol Evol* 17, 368-376.
- Fitch, W. M. (1971). The nonidentity of invariable positions in the cytochromes *c* of different species. *Biochem Genet* 5, 231-241.

- Folk, R.L. (1954). The distinction between grain size and mineral composition in sedimentary rock nomenclature. *The Journal of Geology*, 62: 334-359.
- Folk, R.L. and W.C. Ward (1957). Brazos River bar: A study in the significance of grain size parameters. *Journal of Sedimentary Petrology*, 27: 3-27.
- Frette, L., Jorgensen, N. O., Irming, H. & Kroer, N. (2004). *Tenacibaculum skagerrakensis* sp. nov., a marine bacterium isolated from the pelagic zone in Skagerrak, Denmark. *Int J Syst Evol Microbiol* 54, 519-524.
- Garrity, G. M. & Holt, J. G. (2001). The road map to the Manual. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, pp. 119 - 166. Edited by D. R. Boone, R. W. Castenholz & G. M. Garrity. New York: Springer.
- Gosink, J. J., Woese, C. R. & Staley, J. T. (1998). *Polaribacter* gen. nov., with three new species, *P. irgensii* sp. nov., *P. franzmannii* sp. nov. and *P. filamentus* sp. nov., gas vacuolate polar marine bacteria of the *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* group and reclassification of '*Flectobacillus glomeratus*' as *Polaribacter glomeratus* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 48, 223-235.
- Hansen, G. H., Bergh, Ø., Michaelsen, J. & Knappskog, D. (1992). *Flexibacter ovolyticus* sp. nov., a pathogen of eggs and larvae of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. *Int J Syst Bacteriol* 42, 451-458.
- Hong, S.S., S.W. Bang, Y.O. Kim and M.S. Han. (2002). Effects of rainfall on the hydrological conditions and phytoplankton community structure in the riverine zone of the Pal'tang reservoir, Korea. *J. Freshwater Ecol.* 17: 507-519
- Howes, B. L., Dacey, J. W. H. & King, G. M. (1984). Carbonflow through oxygen and sulfate reduction pathways in salt marsh sediments.

Limnol Oceanogr 29, 1037-1051.

- Jo, YW (1990). Taxonomy and biogeography of sandy beach Amphipoda (Crustacea) of Korea. Ph.D., de Universiteit van Amsterdam. 56pp.
- Johansen, J. E., Nielsen, P. & Sjöholm, C. (1999). Description of *Cellulophaga baltica* gen. nov., sp. nov. and *Cellulophaga fucicola* gen. nov., sp. nov. and reclassification of [*Cytophaga*] *lytica* to *Cellulophaga lytica* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 49 Pt 3, 1231-1240.
- Jung, S. Y., Oh, T. K. & Yoon, J. H. (2006). *Tenacibaculum aestuarii* sp. nov., isolated from a tidal flat sediment in Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 56, 1577-1581.
- Kerr, R. G. & Gush, J. L. a. K. A. (1996). In vitro biosynthetic studies of the bryostatins, anti-cancer agents from the marine bryozoan *Bugula neritina*. *Tetrahedron Lett* 37, 8305-8308.
- Khan, S. T., Nakagawa, Y. & Harayama, S. (2006). *Krokinobacter* gen. nov., with three novel species, in the family *Flavobacteriaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol* 56, 323-328.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 16, 111-120.
- Ludwig, W., Strunk, O., Westram, R. & other authors (2004). ARB: a software environment for sequence data. *Nucleic Acids Res* 32, 1363-1371.
- Mackin, J. E. & Swider, K. T. (1989). Organic matter decomposition pathways and oxygen consumption in coastal marine sediments. *J Mar Res* 47, 681-716.
- McCammon, S. A. & Bowman, J. P. (2000). Taxonomy of Antarctic *Flavobacterium* species: description of *Flavobacterium gillisiae* sp. nov.,

- Flavobacterium tegetincola* sp. nov., and *Flavobacterium xanthum* sp. nov., nom. rev. and reclassification of [*Flavobacterium*] *salegens* as *Salegentibacter salegens* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 50, 1055-1063.
- Mesbah, M. & Whitman, W. B. (1989). Measurement of deoxyguanosine/thymidine ratios in complex mixtures by high-performance liquid chromatography for determination of the mole percentage guanine + cytosine of DNA. *J Chromatogr* 479, 297-306.
- Morino, H., (1972). Studies on the Talitridae (Amphipoda-Crustacea) in Japan. I. Taxonomy of Talorchestia and Orchestoidea. *Publ. Seto mar. biol. Lab.*, 21(1): 43-65.
- Nedashkovskaya, O. I., Kim, S. B., Lysenko, A. M., Kalinovskaya, N. I., Mikhailov, V. V., Kim, I. S. & Bae, K. S. (2005). *Polaribacter butkevichii* sp. nov., a novel marine mesophilic bacterium of the family *Flavobacteriaceae*. *Curr Microbiol* 51, 408-412.
- Newman, D. J. & Cragg, G. M. (2004). Marine natural products and related compounds in clinical and advanced preclinical trials. *J Nat Prod* 67, 1216-1238.
- Pomeroy, L. R. (1974). The ocean's food web: A changing paradigm. *BioScience* 24, 409-504.
- Reichenbach, H. (1989). Order I. *Cytophagales* Leadbetter 1974, 99^{AL}. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 3*, pp. 2011 - 2013. Edited by J. T. Staley, M. P. Bryant, N. Pfennig, J. G. Holt. & Baltimore: Williams & Wilkins.
- Saitou, N. & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4, 406-425.
- Sato, Masanori and A. Nakashima (2003). A review of Asian Hediste

- species complex (Nereididae, Polychaeta) with description of two new species and a redescription of *Hediste japonica* (Izuka, 1908). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 137: 403-445.
- Schmidt, E. W. (2005). From chemical structure to environmental biosynthetic pathways: navigating marine invertebrate-bacteria associations. *Trends Biotechnol* 23, 437-440.
- Shannon, E. C. and W. Weaver. (1949). The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana. 117pp.
- Smibert, R. M. & Krieg, N. R. (1994). Phenotypic characterization. In *In Methods for General and Molecular Microbiology*, pp. 611-654. Edited by P. Gerhardt, R. G. E. Murray, W. A. Wood & N. R. Krieg. Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Suzuki, M., Nakagawa, Y., Harayama, S. & Yamamoto, S. (2001). Phylogenetic analysis and taxonomic study of marine *Cytophaga*-like bacteria: proposal for *Tenacibaculum* gen. nov. with *Tenacibaculum maritimum* comb. nov. and *Tenacibaculum ovolyticum* comb. nov., and description of *Tenacibaculum mesophilum* sp. nov. and *Tenacibaculum amylolyticum* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 51, 1639-1652.
- Swofford, D. L. (2002). PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods) 4.0 beta for macintosh. Sunderland, MA: Sinauer Associates Inc.
- Teather, R. M. & Wood, P. J. (1982). Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Appl Environ Microbiol* 43, 777-780.
- Tsai YL, O. B. (1991). Rapid method for direct extraction of DNA from soil and sediments. *Appl Environ Microbiol* 57, 1070-1074.
- Wakabayashi, H., Hikida, M. & Masumura, K. (1986). *Flexibacter maritimus* sp. nov., a pathogen of marine fishes. *Int J Syst Bacteriol* 36, 396-398.

- Woo, H. J. & Je., J.-G. (2002). Changes of sedimentary environments in the southern tidal flat of Kanghwa Island. *Ocean and Polar Research* 24(4), 331-343.
- Yoon, J. H., Kang, S. J. & Oh, T. K. (2005). *Tenacibaculum lutimaris* sp. nov., isolated from a tidal flat in the Yellow Sea, Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 55, 793-798.
- Yoon, J. H., Kang, S. J. & Oh, T. K. (2006). *Polaribacter dokdonensis* sp. nov., isolated from seawater. *Int J Syst Evol Microbiol* 56, 1251-1255.